

DOI: <https://doi.org/10.17816/1728-2802-2021-25-6-505-510>

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



Чувствительность пародонтопатогенов к клеточному соку пихты сибирской (микробиологическое исследование)

А.С. Романов¹, А.В. Рагулин², Е.Е. Олесов², В.Н. Царёв¹, В.Н. Олесова¹¹ Медико-биологический университет им. А.И. Бурназяна, г. Москва, Российская Федерация;² Академия постдипломного образования, г. Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Актуальность. При поиске новых эффективных средств профилактики воспалительных осложнений в состоянии периимплантатных тканей вызывают интерес продукты из хвойной зелени производства компании «Солагифт» (ООО «Солагифт», Томск). Среди них выделяется «Биоэффективный клеточный сок пихты сибирской» — 100% углекислотный экстракт пихты сибирской (водная фракция). Клеточный сок пихты рекомендован для усиления иммунитета, профилактики воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей и лечения ряда патологических состояний. Сок пихты содержит витамин С, каротин, полифенольные соединения, флавоноиды, железо, магний, медь, марганец, цинк, хелатный комплекс мальтол-железо (природный антиоксидант).

Цель работы — микробиологическое исследование чувствительности пародонтопатогенов к «Биоэффективному клеточному соку пихты сибирской» разной концентрации.

Материал и методы. Проведено культивирование ряда пародонтопатогенов в присутствии «Биоэффективного клеточного сока пихты сибирской» в следующих пропорциях 1:5, 1:10, 1:15. Инкубирование длительностью до 3 сут проводили в биореакторе «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия) с автоматическим анализом оптической плотности культуры (OD) при длине волны $\lambda=850$ нм. Оптическую плотность измеряли в единицах МакФарланда (mcf). Оценка контроля роста культуры базировалась на анализе фаз роста пародонтопатогенов: адаптивная (лаг-фаза), экспоненциальная (лог-фаза), стационарная, отмирания. Использованы следующие клинические изоляты микроорганизмов: *Streptococcus constellatus*; *Staphylococcus aureus*; *Fusobacterium nucleatum*; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Результаты. Микробиологическое исследование чувствительности пародонтопатогенов (на примере *S. constellatus*; *S. aureus*; *F. nucleatum*; *A. actinomycetemcomitans*) к «Биоэффективному клеточному соку пихты сибирской» показало замедление роста микроорганизмов в присутствии сока пихты и подавление роста культуры пародонтопатогенов при совместном культивировании с соком пихты. Достоверное снижение оптической плотности культур изученных пародонтопатогенов наблюдали при концентрации сока пихты 1:10 и особенно 1:5. В этих концентрациях рост культуры *S. aureus* отсутствовал, а степень снижения среднего показателя оптической плотности других пародонтопатогенов достигала 27,1% (*A. actinomycetemcomitans*), 31,8% (*F. nucleatum*), 33,6% (*S. constellatus*).

Ключевые слова: пародонтопатогены; сок пихты; культивирование; оптическая плотность; чувствительность; бактериостатическое действие.

Как цитировать:

Романов А.С., Рагулин А.В., Олесов Е.Е., Царёв В.Н., Олесова В.Н. Чувствительность пародонтопатогенов к клеточному соку пихты сибирской (микробиологическое исследование) // Российский стоматологический журнал. 2021. Т. 25, № 6. С. 505–510.

DOI: <https://doi.org/10.17816/1728-2802-2021-25-6-505-510>

DOI: <https://doi.org/10.17816/1728-2802-2021-25-6-505-510>

ORIGINAL STUDY ARTICLE

Sensitivity of parodontopatogens to the cell juice of Siberian fir (microbiological investigation)

Alexey S. Romanov¹, Arseniy V. Ragulin², Egor E. Olesov², Viktor N. Tsarev¹, Valentina N. Olesova¹

¹ Medical and Biological University named after A.I. Burnazyan, Moscow, Russian Federation;

² Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: Search for new effective means of preventing inflammatory complications in the state of peri-implant tissues is relevant; in particular, products from coniferous greens produced by the Solagift company (Tomsk) are of interest. The “bioeffective cell juice of the Siberian fir,” the 100% carbon dioxide extract of Siberian fir (water fraction), stands out among them. Fir cell juice is recommended for enhancing immunity, preventing inflammatory diseases of the upper respiratory tract, and treating several pathological conditions. Fir juice contains vitamin C, carotene, polyphenolic compounds, flavonoids, iron, magnesium, copper, manganese, zinc, and maltol–iron chelate complex (a natural antioxidant).

AIM: This microbiological study aimed to examine the sensitivity of periodontal pathogens to “bioeffective cell juice of Siberian fir” of various concentrations.

MATERIAL AND METHODS: A number of periodontal pathogens were cultivated in the presence of “bioeffective Siberian fir cell juice” in the following proportions: 1:5, 1:10, and 1:15. Incubation for up to 3 days was conducted in a reverse-spinner RTS-1 bioreactor (BioSan, Latvia) with automatic analysis of the optical density (OD) of the culture at a wavelength (λ) of 850 nm. OD was measured in McFarland units (mcf). The assessment of culture growth control was based on the analysis of the growth phases of periodontal pathogens: adaptive (lag phase), exponential (log phase), stationary, and withering away. The following clinical isolates of microorganisms were used: *Streptococcus constellatus*, *Staphylococcus aureus*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

RESULTS: The microbiological study of the sensitivity of periodontal pathogens (such as *S. constellatus*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, and *A. actinomycetemcomitans*) to “bioeffective cell juice of Siberian fir” showed a growth slowdown of microorganisms in the presence of fir juice and inhibition of the growth of a culture of periodontal pathogens when co-cultivated with fir juice. A significant decrease in the OD of cultures of all studied periodontal pathogens was observed at a fir juice concentration of 1:10 and 1:5. At these concentrations, there was no growth of *S. aureus* culture, and the degree of decrease in the average OD of other periodontal pathogens reached 27.1% (*A. actinomycetemcomitans*), 31.8% (*F. nucleatum*), and 33.6% (*S. constellatus*).

Keywords: periodontal pathogens; fir juice; cultivation; optical density; sensitivity; bacteriostatic effect.

To cite this article:

Romanov AS, Ragulin AV, Olesov EE, Tsarev VN, Olesova VN. Sensitivity of parodontopatogens to the cell juice of Siberian fir (microbiological investigation). *Russian Journal of Dentistry*. 2021;25(6):505–510. DOI: <https://doi.org/10.17816/1728-2802-2021-25-6-505-510>

Received: 10.07.2021

Accepted: 16.08.2021

Published: 01.06.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Периимплантит является основной причиной дезинтеграции внутрикостных дентальных имплантатов [1, 2]. По общему мнению, воспалительные осложнения состояния периимплантатных тканей развиваются вследствие воздействия пародонтопатогенов [3–8]. Ввиду низкой комплаентности пациентов к соблюдению стандартов индивидуальной гигиены в имплантологии рекомендуется систематическое проведение профессиональной гигиены рта. Однако при этом сохраняется большая роль индивидуальной гигиены рта и, в частности, роль стоматологических ополаскивателей. Не прекращается поиск новых эффективных средств профилактики воспалительных осложнений в состоянии периимплантатных тканей, например, вызывают интерес продукты из хвойной зелени производства компании «Солагифт» (ООО «Солагифт», Томск). Среди них выделяется «Биоэффективный клеточный сок пихты сибирской» — 100% углекислотный экстракт пихты сибирской (водная фракция) [9].

Клеточный сок пихты рекомендован для усиления иммунитета, профилактики воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей и лечения ряда патологических состояний. Сок пихты содержит витамин С, каротин, полифенольные соединения, флавоноиды, железо, магний, медь, марганец, цинк, хелатный комплекс мальтол-железо (природный антиоксидант).

Цель исследования — микробиологическое исследование чувствительности пародонтопатогенов к «Биоэффективному клеточному соку пихты сибирской» разной концентрации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Совместно с кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России проведено культивирование ряда пародонтопатогенов в присутствии «Биоэффективного клеточного сока пихты сибирской» в следующих пропорциях 1:5, 1:10, 1:15 [10, 11].

Инкубирование длительностью до 3 сут проводилось в биореакторе «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия) с автоматическим анализом оптической плотности культуры (OD) при длине волны $\lambda=850$ нм. Оптическую плотность измеряли в единицах МакФарланда (mcf). Оценка контроля роста культуры базировалась на анализе фаз роста пародонтопатогенов: адаптивная (лаг-фаза), экспоненциальная (лог-фаза), стационарная, отмирания. В графиках динамики оптической плотности показатели C^- и C^+ обозначали линии «контроль среды» и «контроль культуры» соответственно. Настройки культивирования биореактора: 37 °C; RPM: 1600 min^{-1} ; Measurement freq.: 2 h^{-1} ; Rev. Spin period: 1 sec; Volume: 15–19 ml; 850 nm.

Для данного микробиологического исследования использовали следующие клинические изоляты

микроорганизмов: *Streptococcus constellatus*; *Staphylococcus aureus*; *Fusobacterium nucleatum*; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам культивирования клинического изолята *A. Actinomycetemcomitans* с «Биоэффективным клеточным соком пихты сибирской» в контрольной пробирке лаг-фаза длилась до 27 ч (рис. 1). Ускорение бактериального прироста продолжалось в течение 8 ч, что означало начало логарифмической фазы роста (ускоренный рост на промежутке 27–36 ч). Экспоненциальная фаза роста характеризовалась максимальной скоростью деления бактерий в контрольном образце и отмечалась на промежутке с 36 (0,54 Mcf) до 48 ч (6,00 Mcf). Изменение оптической плотности на данном временном промежутке составило более 5,00 Mcf. Фаза торможения, или замедленного роста, в период линейного роста характеризовалась постоянной скоростью прироста биомассы (числа клеток), была достаточно продолжительной — с 48–78 ч культивирования с выходом в стационарную фазу культивирования с показателем 7,23 Mcf (78 ч). Соотношение отмирающих, вновь образующихся и покоящихся клеток становится стабильным. Прироста биомассы не наблюдается. Средний показатель стационарной фазы — $7,20 \pm 0,05$ Mcf.

В разведении сока пихты 1:15 прослеживалась пролонгация фазы ускоренного роста с максимальным показателем 0,65 Mcf (42 ч). Экспоненциальная фаза имела интенсивную генерацию бактериальных популяций, скорость которой соответствовала контрольному образцу, однако максимальный показатель в данной фазе составил 5,1 Mcf, что существенно ниже, чем в контроле. Фаза замедления бактериального прироста и стационарная фаза по своей тенденции совпадала с контрольным образцом. Средний показатель в стационарной фазе — $6,21 \pm 0,05$ Mcf.

В разведении 1:10 не было отличия в лаг-фазе (в сравнении с предыдущими образцами), скорость бактериального прироста в логарифмической фазе была ниже, со средним изменением оптической плотности в $0,56 \pm 0,05$ Mcf. Окончание фазы логарифмического роста 68 ч (4,87 Mcf). Средний показатель в стационарной фазе составил $5,31 \pm 0,05$ Mcf.

Значительное удлинение фазы адаптации отмечали в образце с разведением сока пихты 1:5. Ускорение бактериального прироста началось только с 48-го часа культивирования, что почти на 18 ч позже, чем в контрольном образце. Фаза ускоренного роста была длиннее, чем в других образцах, и выход культуры в экспоненциальный рост был отмечен только к 73-му часу культивирования. Продолжительность лог-фазы — 25 ч, максимальный показатель — 5,12 Mcf. Средний показатель в стационарной фазе — $5,25 \pm 0,05$ Mcf, что на 27% меньше, чем в контрольном образце.

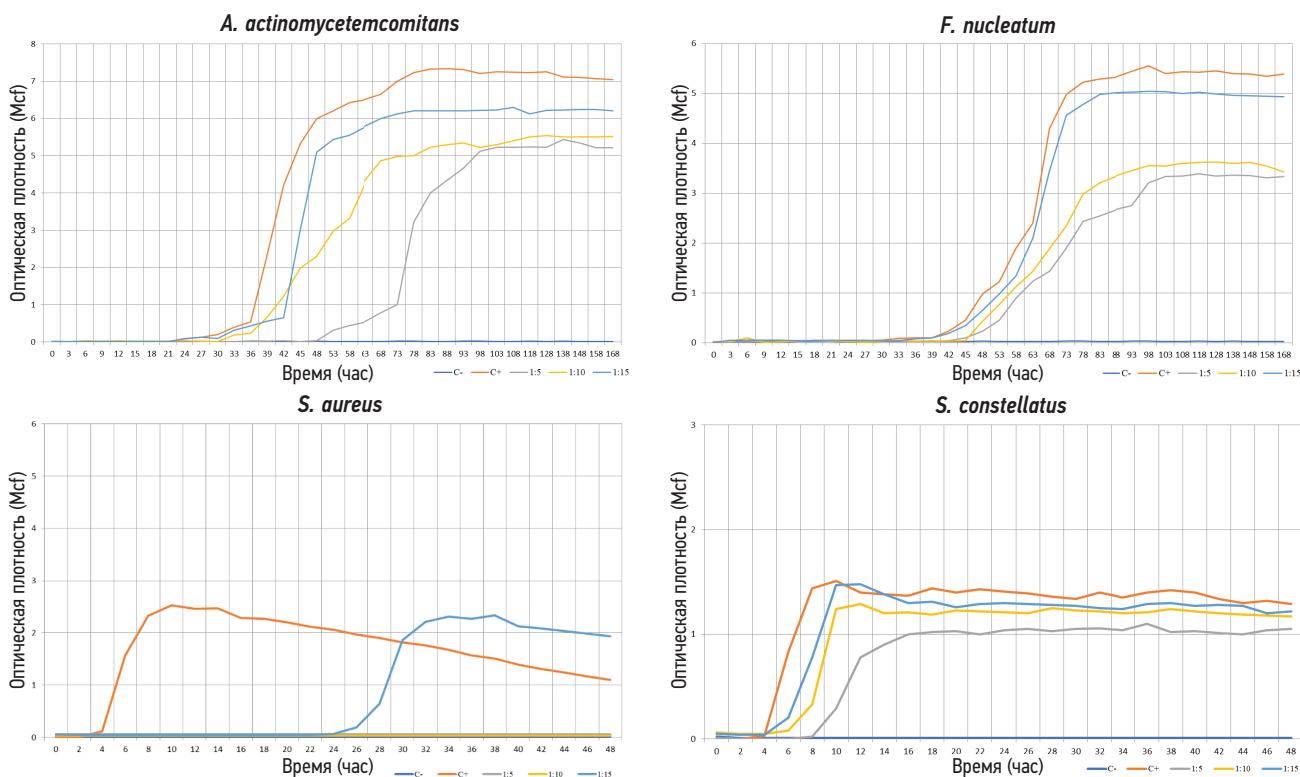


Рис 1. Оптическая плотность культур пародонтопатогенов в динамике культивирования с «Биоэффективным клеточным соком пихты сибирской» разной концентрации

Fig. 1. Optical density of periodontal pathogen cultures in the dynamics of cultivation with "Bioeffective cell juice of Siberian fir" of different concentrations

По результатам культивирования клинического изолята *F. nucleatum* с «Биоэффективным клеточным соком пихты сибирской» в контрольной пробирке фаза адаптации продолжалась около 36 ч, первые признаки начала бактериального прироста отмечались после 37-го часа культивирования с менее выраженной фазой ускоренного роста (39–45 ч). Средний показатель изменения оптической плотности составил 0,22 Mcf (снятие показаний OD каждые 3 ч). Экспоненциальную фазу роста, характеризующую максимальной скоростью деления бактерий, в контрольном образце регистрировали с 45-го (0,45 Mcf) до 73-го часа (4,98 Mcf). В данной фазе отмечается высокая скорость бактериального прироста и изменение оптической плотности в среднем на $5,5 \pm 0,05$ Mcf. Фаза замедленного роста объединяет две фазы — фазу линейного роста ($\mu = \text{const}$) и фазу отрицательного ускорения (98–103 ч). Средний показатель стационарной фазы составил $5,4 \pm 0,05$ Mcf.

В разведении клеточного сока в соотношении 1:15 статистически достоверных результатов не наблюдали ($5,0 \pm 0,05$ Mcf). Скорость прироста бактериальных популяций и основные временные границы фаз роста совпадали с контрольным образцом.

В разведении концентрата в соотношении 1:10 и 1:5 отмечали небольшое увеличение адаптивной фазы

с моментальным переходом культуры в фазу логарифмического роста. В данных образцах скорость генерации существенно снижена в сравнении с «классической» лог-фазой, поэтому в данном случае происходит пропорциональное увеличение численности бактериальных клеток — «сбалансированный рост». Средний показатель стационарной фазы в концентрациях 1:10 и 1:5 — $3,60 \pm 0,05$ и $3,44 \pm 0,05$ Mcf, что меньше, чем в контрольном образце.

В контрольной пробе наблюдали типичный рост бактериальной популяции *S. aureus*. Начальная, или фаза адаптации, составляла 3 ч, после чего ускоренный рост переходил в экспоненциальную фазу, и кривая стремительно достигала максимума на 10-й час (2,53 Mcf). Стационарная фаза была непродолжительной и длилась 5 ч, после чего культура перешла в фазу отмирания. «Урожай» стационарной фазы отмечен средним показателем $2,43 \pm 0,05$ Mcf.

При добавлении клеточного сока пихты с разведением 1:15 отмечалась существенная пролонгация адаптивной фазы — до 24 ч (контрольный образец — до 3 ч). Экспоненциальная фаза по степени бактериального прироста не отличалась от контрольной, но фаза замедления была более выраженной, чем в предыдущем образце. Максимальный показатель оптической плотности при выходе в стационарную фазу культивирования 2,10 Mcf. В данной

концентрации прослеживается явное бактериостатическое воздействие исследуемого образца, а в меньшем разведении (1:5 и 1:10) роста не наблюдалось.

Оценка чувствительности к различным концентрациям сока пихты микроаэрофильного *S. constellatus* показала, что фаза адаптации, охватывающая промежуток от момента посева бактерий до видимого начала их роста в контрольной пробирке, продолжалась в среднем до 4-го часа культивирования, у сравниваемых образцов было отмечено удлинение данной фазы в среднем на 2–4 ч. Экспоненциальная фаза, характеризующаяся прогрессирующим нарастанием скорости деления клеток, имела достоверные отличия только при разведении исследуемого образца в соотношении 1:5. В данном образце отмечался спад скорости генерации популяций и ярко выраженная фаза замедления. Стационарная фаза для образцов в разведении 1:10 и 1:15 наступила на промежутке 14–15 ч, в отличие от образца с минимальным разведением 18 ч. Средний показатель на пике стационарной фазы для образцов с разведением 1:10 и 1:15 составил соответственно 1,20 Mcf и 1,50 Mcf, для образца 1:5 — 1,03 Mcf (контрольный образец 1,55 Mcf).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное микробиологическое исследование чувствительности пародонтопатогенов (на примере *S. constellatus*; *S. aureus*; *F. nucleatum*; *A. actinomycetemcomitans*) к «Биоэффективному клеточному соку пихты сибирской» показало замедление роста микроорганизмов в присутствии сока пихты и подавление роста культуры

пародонтопатогенов при совместном культивировании с соком пихты. Достоверное снижение оптической плотности культур всех изученных пародонтопатогенов наблюдалось при концентрации сока пихты 1:10 и особенно 1:5. В этих концентрациях рост культуры *S. aureus* отсутствовал, а степень снижения среднего показателя оптической плотности других пародонтопатогенов достигала 27,1% (*A. actinomycetemcomitans*), 31,8% (*F. nucleatum*), 33,6% (*S. constellatus*).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Олесова В.Н., Бронштейн Д.А., Степанов А.Ф., и др. Частота развития воспалительных осложнений в периимплантатных тканях по данным отдаленного клинического анализа // Стоматолог. 2017. № 1. С. 58–62.
2. Кулаков А.А. Дентальная имплантация: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018.
3. Никитин В.В., Олесова В.Н., Пашнова Г.С., и др. Профилактика периимплантита с использованием средства на основе бактериофагов // Российский вестник дентальной имплантологии. 2017. № 2. С. 55–59.
4. Пародонтология. Национальное руководство. 2-е издание / под ред. Ревазовой З.Э. Москва, 2018.
5. Царев В.Н., Панин А.М., Чувилкин В.И., и др. Комплексная оценка содержания пародонтопатогенных бактерий и цитокинов при периимплантите с помощью ПЦР и иммуноферментного анализа // Российский вестник дентальной имплантологии. 2017. № 3–4. С. 86–90.
6. Гветадзе Р.Ш., Дмитриева Н.А., Воронин А.Н. Сравнительный анализ степени колонизации микроорганизмов на поверхности индивидуальных формирувателей десны // Институт стоматологии. 2019. № 3. С. 30–31.
7. Ушаков Р.В., Царев В.Н. Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы Москва: РМАНПО, 2019.
8. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 5. С. 101–112.
9. Солагифт [Internet]. Компания Солагифт [дата обращения: 06.01.2022]. Доступ по ссылке: www.solagift.ru
10. 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. С. 4–10.
11. Морозов Д.И., Волков А.Г., Дикопова Н.Ж., Олесов Е.Е., Пономарева А.Г. Определение минимальной подавляющей концентрации к метронидазолу представителей облигатно и факультативно-анаэробной микрофлоры пародонтальных карманов // Российский стоматологический журнал. 2021. Т. 1, № 25. С. 53–57.

REFERENCES

1. Olesova VN, Bronstein DA, Stepanov AF, et al. The incidence of inflammatory complications in peri-implant tissues according to long-term clinical analysis. *Dentist*. 2017;(1):58–62. (In Russ).
2. Kulakov AA. *Dental implantation: national guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. (In Russ).
3. Nikitin VV, Olesova VN, Pashkova GS, et al. Prevention of peri-implantitis using a bacteriophage-based agent. *Russian Bulletin of Dental Implantology*. 2017;(2):55–59. (In Russ).
4. Revazova ZE, editor. *Periodontics. National leadership. 2nd edition*. Moscow. 2018; 752s. (In Russ).
5. Tsarev VN, Panin AM, Chuvilkin VI, et al. Comprehensive assessment of the content of periodontal pathogenic bacteria and cytokines in peri-implantitis using PCR and enzyme-linked immunosorbent assay. *Russian Bulletin of Dental Implantology*. 2017;(3–4):86–90. (In Russ).
6. Gvetadze RS, Dmitrieva NA, Voronin AN. Comparative analysis of the degree of colonization of microorganisms on the surface of individual gingiva formers. *Institute of Dentistry*. 2019;(3):30–31. (In Russ).
7. Ushakov RV, Tsarev VN. *Antimicrobial therapy in dentistry. Principles and algorithms*. Moscow: RMANPO; 2019. (In Russ).
8. Tsarev VN, Nikolaeva EN, Ippolitov EV. Periodontal pathogenic bacteria are the main factor in the onset and development of periodontitis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2017;(5):101–112. (In Russ).
9. Solagift [Internet]. Company Solagift company [cited 06 Jan 2022]. Available from: www.solagift.ru.
10. Tsarev VN, Atrushkevich VG, Ippolitov EV, Podporin MS. Comparative analysis of the antimicrobial activity of periodontal antiseptics using an automated system for monitoring the growth of microorganisms in real time. *Periodontics*. 2017;(1):4–10. (In Russ).
11. Morozov DI, Volkov AG, Dikopova NZ, et al. Determination of the minimum inhibitory concentration to metronidazole of representatives of obligate and facultative anaerobic microflora of periodontal pockets. *Russian dental journal*. 2021;1(25):53–57. (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

***Романов Алексей Сергеевич**, аспирант;
адрес: Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 15;
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4414-0270>;
e-mail: docromanoff@yandex.ru

Рагулин Арсений Витальевич;
e-mail: senya12_95@mail.ru

Олесов Егор Евгеньевич, д-р мед. наук, доцент;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9165-2554>;
SPIN-код: 8924-3520;
e-mail: olesov_georgiy@mail.ru,

Царев Виктор Николаевич, д-р мед.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>;
SPIN-код: 8180-4941;
e-mail: nikola777@rambler.ru

Олесова Валентина Николаевна, д-р мед.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3461-9317>;
SPIN-код: 6851-5618;
e-mail: olesova@implantat.ru

AUTHORS INFO

***Alexey S. Romanov**, postgraduate;
address: 15, Gamaley str., Moscow, 123098, Russia;
ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4414-0270>;
e-mail: docromanoff@yandex.ru

Arseniy V. Ragulin;
e-mail: senya12_95@mail.ru

Egor E. Olesov, MD, Dr. Sci. (Med.), associate professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9165-2554>;
SPIN code: 8924-3520;
e-mail: olesov_georgiy@mail.ru

Viktor N. Tsarev, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>;
SPIN code: 8180-4941;
e-mail: nikola777@rambler.ru

Valentina N. Olesova, MD, Dr. Sci. (Med.), professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3461-9317>;
SPIN code: 6851-5618;
e-mail: olesova@implantat.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author