



МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

Н.В. БОЧАРОВА, Ю.К. ДЕНИСЕНКО, Т.П. НОВГОРОДЦЕВА, Д.А. КОВАЛЕВСКИЙ

Владивостокский филиал ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ, ул. Русская, д.73-г, г. Владивосток, 690105, Россия

Аннотация. *Цель исследования* – создание экспериментальной модели неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы. *Материалы и методы исследования.* Патологические изменения поджелудочной железы развивали у крыс линии Вистар под воздействием высокожировой диеты в течение 4, 12 и 24 недель. На гистологических препаратах оценивали морфологическое строение поджелудочной железы. Сыворотка крови экспериментальных животных исследовалась на активность липазы, концентрацию глюкозы, лактата, липидов. *Результаты и их обсуждение.* В результате воздействия на крыс высокожировой диеты в течении 24 недель удалось сформировать стойкие гистоморфологические и биохимические нарушения в поджелудочной железе, идентичные таковым при развитии неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы. Гистоморфологическая оценка позволила выявить стадийность развития неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы: через 4 недели эксперимента определяется стеатоз; по истечении 12 недель развивается стеатопанкреонекроз; через 24 недели от начала эксперимента формируется стеатопанкреонекроз с фиброзной трансформацией. Кроме того, нарушения гистологической структуры органа сопровождалось метаболическими сдвигами липидного и углеводного обмена, которые являются основополагающими факторами патогенеза данного заболевания. **Заключение.** Таким образом, в результате подбора специальной высокожировой диеты и сроков воздействия удалось разработать экспериментальную модель неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы со всеми стадиями развития заболевания.

Ключевые слова: поджелудочная железа, неалкогольная жировая болезнь поджелудочной железы, панкреостеатонекроз, экспериментальная модель.

MODELING OF NON-ALCOHOLIC FATTY PANCREAS DISEASE IN WISTAR RATS

N.V. BOCHAROVA, Yu.K. DENISENKO, T.P. NOVGOROTSEVA, D.A. KOVALEVSKY

Vladivostok branch of DSC FPD - NIIMKVL, Russkaya Str., 73-g, Vladivostok, 690105, Russia

Abstract. *The research purpose* is to create an experimental model of non-alcoholic fatty disease of the pancreas. *Materials and research methods.* Pathological changes in the pancreas were developed in Wistar rats under the influence of a high-fat diet for 4, 12 and 24 weeks. On histological preparations, the morphological structure of the pancreas was evaluated. The blood serum of experimental animals was examined for lipase activity, concentration of glucose, lactate, and lipids. *Results and its discussion.* As a result of exposing rats to a high-fat diet for 24 weeks, it was possible to form persistent histomorphological and biochemical disorders in the pancreas, identical to those in the development of non-alcoholic fatty disease of the pancreas. Histomorphological assessment allowed us to identify the staging of the development of non-alcoholic fatty disease of the pancreas: after 4 weeks of the experiment, steatosis is determined; after 12 weeks, steatopancreonecrosis develops; 24 weeks after the start of the experiment, steatopancreatic necrosis with fibrous transformation is formed. In addition, the violation of the histological structure of the organ was accompanied by metabolic changes in lipid and carbohydrate metabolism, which are fundamental factors in the pathogenesis of this disease. **Conclusion.** Thus, as a result of the selection of a special high-fat diet and the timing of exposure, we have developed an experimental model of non-alcoholic fatty pancreatic disease with all stages of the development of the disease.

Keywords: pancreas, non-alcoholic fatty disease of the pancreas, pancreatic osteonecrosis, experimental model.

Актуальность. Потребление продуктов с высоким содержанием жиров и малоподвижный образ жизни сформировали эпидемию XXI века – ожирение. По данным Всемирной организации здравоохранения в 2017 году более 4 миллионов человек умерло из-за избыточного веса или ожирения [1]. По последним статистическим данным за 2016 год более 1,9 миллиарда взрослых людей в возрасте от 18 лет и старше имели избыточный вес или ожирение, что составило 1/3 населения земного шара. Увеличение численности населения с ожирением сформировало тенденцию к росту ассоциированных с ожирением

заболеваний, таких как: заболевания сердечно сосудистой системы, сахарный диабет 2 типа, желчнокаменная болезнь, *неалкогольная жировая болезнь печени* (НАЖБП) и *поджелудочной железы* (НАЖБПЖ) [3, 6, 14]. При этом связанные с ожирением изменения в поджелудочной железе остаются малоизученными. Только в последние годы сформирован термин, характеризующий изменения в поджелудочной железе, вызванные жировым повреждением. Неалкогольная жировая болезнь поджелудочной железы, формирующаяся при жировом поражении органа, наравне с НАЖБП входит в обиход специалистов в области гастроэнтерологии. Она включает в себя весь спектр жировых поражений поджелудочной железы – развитие стеатоза, стеатопанкреанекроза и фиброза [2, 4, 7, 8].

Изучение НАЖБПЖ является актуальным вопросом, так как до сих пор остается много «белых пятен» в патогенезе этого заболевания. Биопсия тканей поджелудочной железы выполняется очень редко, а инструментальные методы визуализации не дают полной картины гистологического строения тканей органа, сложно дифференцировать степень жирового перерождения в клетках и выявлять фиброзные изменения [10]. Кроме того, сложность диагностики вызывает бессимптомность протекания заболевания, особенно на ранних стадиях, и отсутствие четких критериев патогенеза [12, 13].

Создание модели, способной передать структурно-функциональные изменения поджелудочной железы, свойственные заболеваниям человека, является актуальным предметом экспериментальной патофизиологии. В фундаментальной науке экспериментальное моделирование помогает более глубоко исследовать патогенетические механизмы заболеваний, в том числе заболеваний поджелудочной железы, ассоциированных с ожирением. В медицинской практике, на экспериментальной модели – возможна отработка новых лечебных технологий и фармакологических препаратов.

На данный момент не существует специальной экспериментальной модели формирования неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы. Существующие способы формирования некроза клеток и воспаления поджелудочной железы (панкреатита) индуцируются через механическое травмирование органа, развитие ишемии, через сосудисто-аллергические и токсико-инфекционные процессы [9, 11]. Данные факторы патогенеза панкреатита не идентичны реальным причинам, вызывающим нарушение состояния органа. Большинство моделей технически сложно выполнимы, весьма травматичны для животного, непредсказуемы в развитии и, главное, не отвечают поставленным задачам для формирования НАЖБПЖ, соответствующей заболеванию у людей. В связи с этим, создание модели НАЖБПЖ, способной передать структурно-функциональные изменения поджелудочной железы свойственные заболеваниям у человека – является актуальным предметом экспериментальной патофизиологии.

Цель исследования – разработать способ моделирования НАЖБПЖ у крыс с помощью высокожировой диеты, отличающийся высокой воспроизводимостью, с минимальной смертностью животных, а, главное, максимально приближенный к клиническому течению заболевания поджелудочной железы у человека.

Материалы и методы исследования. Для создания модели НАЖБПЖ использовалось 40 крыс самцов линии Вистар в возрасте 6 месяцев со средней массой 180,4±5.4 г. Животных содержали на высокожировом патогенном рационе, включающем холестерин (10% от общего состава рациона) и топленое говяжье сало (20% от общего состава рациона). Прототипом модели развития НАЖБПЖ послужил способ формирования алиментарной дислипидемии, ожирения и неалкогольного стеатогепатита у крыс, разработанный ранее [5]. Длительность воздействия экспериментальным рационом выбиралась с учетом возможности формирования последовательных этапов структурных преобразований в поджелудочной железе, соответствующих легкой и тяжелой стадии развития НАЖБПЖ. Это позволило сформировать этапы формирования НАЖБПЖ. Так было выделено 3 временных этапа развития патологии: 1 – через 4 недели экспериментальной диеты; 2 – через 12 недель и 3 – через 24 недели воздействия экспериментальным рационом. Группой контроля стали крысы (10 животных), содержащиеся на стандартном рационе вивария.

Эвтаназия животных проводилась путем декапитации под эфирным наркозом в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 *ЕЕС*. Оценивались биометрические показатели каждого животного, включающие в себя: вес животного, относительную и абсолютную массу поджелудочной железы и висцерального жира.

Морфологию тканей органа оценивали на гистологических срезах средней части поджелудочной железы, окрашенных гематоксилин-эозином по Романовскому. Гистологические препараты анализировали при помощи микроскопа «Carl Zeiss» (Германия) (ув. об. ×10, ×40 и ×100).

Функциональное состояние поджелудочной железы исследовали по показателям сыворотки крови: *активность липазы* (МЕ/л), концентрация глюкозы (ммоль/л) и лактата (ммоль/л), *содержание общего холестерина* (ХС, ммоль/л), *триацилглицеролов* (ТАГ, ммоль/л), *ХС липопротеинов высокой плотности* (ХС ЛПВП, ммоль/л). *Уровень холестерина липопротеинов низкой* (ХС ЛПНП, ммоль/л) и *очень низкой плотности* (ХС ЛПОНП, ммоль/л) рассчитывали согласно уравнению Фридвальта; *индекс атерогенности* (ИА, у.е.) – по стандартной формуле ХС-ХС ЛПВП/ХС ЛПВП.

Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программного обеспечения *Statistika 10.0*. Тест Шапиро-Уилка использовался для проверки распределения данных. При нормальном распределении данные представлялись в виде *среднего значения (M)* с ошибкой среднего арифметического значения (*m*). Значимость различий, наблюдаемых между группами для одновременных измерений, оценивали с помощью двустороннего непарного *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждения. У всех крыс экспериментальных групп выявлено увеличение массы тела, существенное повышение массы висцеральной жировой ткани и поджелудочной железы по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Полученные результаты указывают на развитие ожирения и жировой гипертрофии поджелудочной железы у крыс, подвергавшихся воздействию патогенным высокожировым питанием.

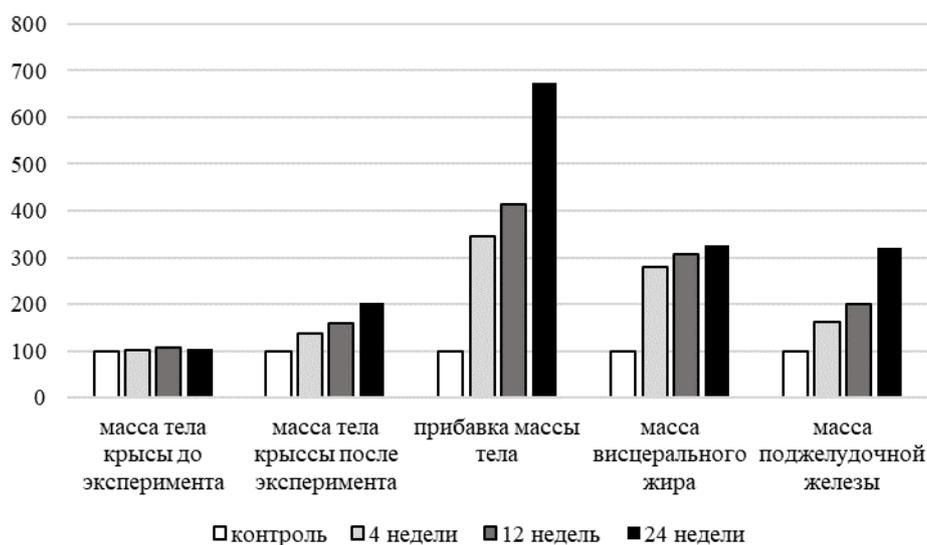


Рис. 1. Изменения биометрических показателей крыс под влиянием экспериментального рациона относительно группы контроля. Показатели группы контроля взяты за 100%

Доказательством развития модели НАЖБ ПЖ у животных служило исследование морфологии тканей органа на гистологических срезах. В контрольных группах морфология органов у животных соответствовала норме. Хорошо прослеживалась дольчатость строения (рис. 2а). Ацинусы были представлены железистыми клетками с ярко выраженной дифференциацией на базальную часть с ядром и на апикальную часть, содержащую секреторируемые вакуоли. Между ацинусами располагались островки Лангерганса. Островки имели округлую форму и состояли из инсулиноцитов, между которыми располагались капилляры с перикапиллярным пространством.

На 4 неделе экспериментального моделирования НАЖБ ПЖ у животных отмечалось изменение структуры поджелудочной железы. Дольчатость строения прослеживалась хорошо, но наблюдалась некоторая отечность стромы ткани, вакуолизация цитоплазмы и увеличение размеров клеток ацинусов, что, скорее всего, было вызвано жировой инфильтрацией органа. Картина структурных изменений характеризовала формирование стеатоза (рис. 2б).

Гистоструктура поджелудочной железы у крыс, содержащихся на жировом рационе в течение 12 недель, имела слабовыраженную волокнистую строму, дольчатость строения прослеживалась слабо. В междольковых прослойках соединительной ткани выявлялись выводные протоки и кровеносные сосуды, в отдельных участках наблюдались скопления оптически пустых клеток – *липоцитов* (рис. 2в). Обнаруживались очаги паренхимы ткани с клетками с жировой инфильтрацией. Клетки не формировали ацинарного строения ткани, некоторые клетки были заполнены крупными вакуолями. Наблюдались также очаги некроза с воспалительной инфильтрацией. Данная картина демонстрировала развитие стеатопанкреонекроза.

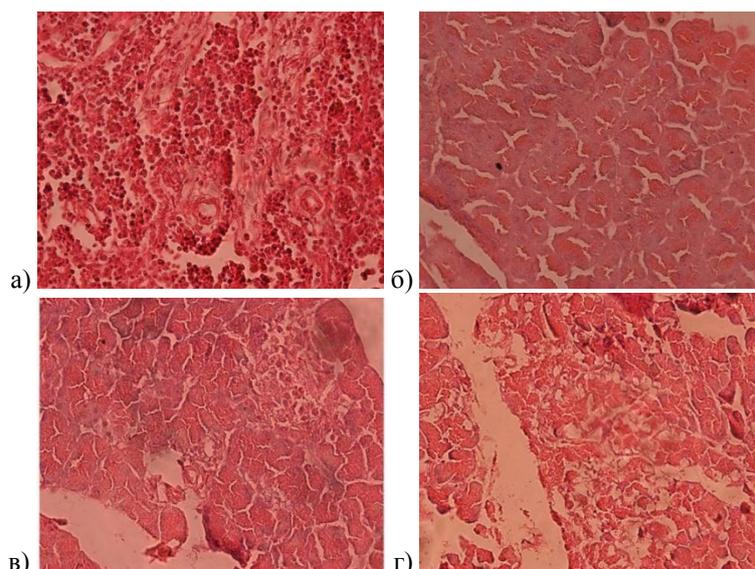


Рис. 2. Морфология поджелудочной железы у крыс: а) контрольная группа; б) опытная группа 1; в) опытная группа 2; опытная группа 3. Разрастание соединительной ткани (СТ). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение: Ок.×15, Об.×40

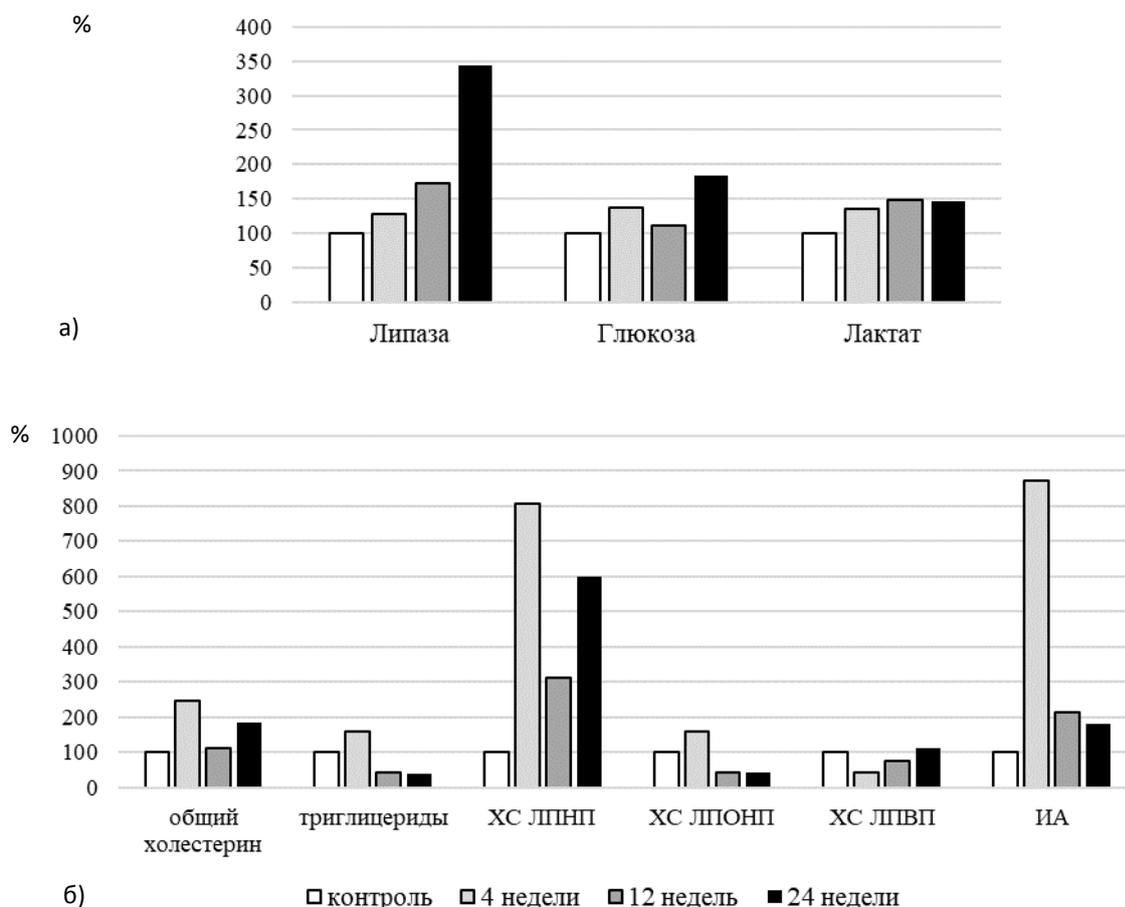


Рис. 3. Изменения биохимических показателей крови крыс под влиянием экспериментального рациона относительно группы контроля. Показатели группы контроля взяты за 100%

Исследование морфологии тканей поджелудочной железы крыс через 24 недели эксперимента выявило наличие клеток в состоянии некроза с очагами воспалительно-клеточной инфильтрации (рис. 2г).

Архитектура органа нарушалась, отмечалось разрастание соединительной ткани в паренхиме органа. На данном этапе установлено формирование стеатопанкреонекроза с фиброзной трансформацией поджелудочной железы.

Динамика метаболических процессов в организме крыс, содержащихся на экспериментальном рационе в течение 24 недель, характеризовалась стабильной перестройкой метаболизма липидов, углеводов и активности ферментов (рис. 3а). Отмечалось повышение активности фермента поджелудочной железы – липазы ($p < 0,05$), что указывает на сбой в работе железы, вследствие некроза поджелудочных ацинарных клеток. Увеличение концентрации глюкозы и лактата в крови крыс свидетельствует о формировании гипергликемии, формирующейся на фоне нарушения работы поджелудочной железы, снижения выработки инсулина в эндокринных клетках железы. Выявленные изменения активности изучаемых ферментов являются диагностическим критерием структурно-функционального повреждения поджелудочной железы и формирования панкреостеатонекроза.

Динамика уровня сывороточных липидов и липопротеинов в крови экспериментальных животных характеризовалась увеличением концентраций холестерина, триацилглицерола и ХС липопротеинов очень низкой плотности через 4 недели патогенной диеты (рис. 3б.). В то же время наблюдалось двукратное снижение количества антиатерогенного холестерина ЛПВП в крови крыс. Полученные результаты указывают на развитие алиментарной дислипидемии у крыс уже на ранних сроках моделирования патологии поджелудочной железы. Продолжающееся воздействие патогенным рационом на крыс до 24 недель способствовало ухудшению показателей липидного обмена. У крыс в сыворотке крови после 24-х недель эксперимента зафиксировано повышение наиболее атерогенных фракций холестерина (ХС, ХС ЛПНП, ИА) относительно показателей контрольных животных.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что воздействие на крыс специальным патогенным высокожировым рационом в течение 24 недель способствует развитию *неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы*, характеризующейся изменениями гистоструктуры органа и формированием метаболических нарушений. Использование различных экспериментальных сроков позволяет получить различные стадии НАЖБ ПЖ – стеатоза, стеатопанкреонекроза и стеатопанкреонекроза с фиброзом. Данный способ запускает наиболее приближенный к клинической практике патогенетический механизм формирования НАЖБ ПЖ у экспериментальных животных. Кроме того, модель легко воспроизводима и не требует высокотехнических и затратных средств.

Литература

1. Бенца Т.М. Ожирение: современные подходы к рациональной терапии // Лики Украины. 2019. Т. 229, №3. С. 4–9.
2. Губергриц Н.Б., Беляева Н.В., Можина Т.Л. Параллели между неалкогольной жировой болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью поджелудочной железы: в поисках точек соприкосновения или взгляд сквозь призму метаболического синдрома // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020. Т. 183, № 11. С. 80–101.
3. Ефимова О.В., Григорьева И.Н., Тов Н.Л., Суворова Т.С., Непомнящих Д.Л., Романова Т.И. Липиды, печень и поджелудочная железа на перекрестке эпидемий метаболического синдрома и ожирения // Атеросклероз. 2020. Т. 16, № 4. С. 77–84.
4. Ивашкин В.Т., Шифрин О.С., Соколова И.А. Хронический панкреатит, стеатоз поджелудочной железы и стеатопанкреатит. М.: Литтерра, 2014. 240 с.
5. Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А., Бивалькевич Н.В. Моделирование неалкогольного стеатогепатита // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2012. Т. 153, № 3. С. 378–382.
6. Кыткова О.Ю., Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К., Ковалевский Д.А. Метаболические и генетические детерминанты нарушения липидного обмена при неалкогольной жировой болезни печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020. Т.30, №2. С. 15–25.
7. Попова Ю.Р., Атлас Е.Е. Коррекция морфофункционального состояния печени при ожирении // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №2. Публикация 2-18. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-2/2-18.pdf> (дата обращения 09.06.2017). DOI: 10.12737/article_593f9b997238e9.07094355
8. Chiyanka C., Chan D.F.Y., Hui S.C.N., So H.K., Deng M., Yeung D.K.W., Nelson E.A.S., Chu W.C.W. The relationship between pancreas steatosis and the risk of metabolic syndrome and insulin resistance in Chinese adolescents with concurrent obesity and non-alcoholic fatty liver disease // *Pediatr Obes.* 2020. №15(9). P. e12653. DOI:10.1111/ijpo.12653
9. Gorelick F., Lerch M. Do animal models of acute pancreatitis reproduce human disease? // *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology.* 2017. Vol. 4 (2). P. 251–262.
10. Ramkissoon R., Gardner T.B. Pancreatic Steatosis: An Emerging Clinical Entity // *Am. J. Gastroenterol.* 2019. Vol. 114, № 11. P. 1726–1734 DOI: 10.14309/ajg.0000000000000262.
11. Ulasoglu C., Tekin Z.N., Akan K., Yavuz A. Does Nonalcoholic Pancreatic Steatosis Always Corre-

late with Nonalcoholic Fatty Liver Disease? // Clin Exp Gastroenterol. 2021. № 14. P. 269–275.

12. Wong S., Chin K., Suhaimi F., Fairus A., Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review // Nut. Metab. 2016. Vol. 13, №1. P. 1–12. DOI:10.1186/s12986-016-0123-9.

13. Xinmin Y., Linbo Y., Xianghui F., Rajarshi M., Qing X., Jakubowska M.A., Pawel F.E., Wei H. Experimental Acute Pancreatitis Models: History, Current Status, and Role in Translational Research // Frontiers in Physiology. 2020. Vol 11. P. 1–22. DOI:10.3389/fphys.2020.614591.

14. Zhukova N.V., Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K. Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver // Lipids Health Dis. 2014. №13. P. 49. DOI:10.1186/1476-511X-13-49.

References

1. Benca TM. Ozhirenie: sovremennye podhody k racional'noj terapii [Obesity: modern approaches to rational therapy]. Liki Ukrainy. 2019;229(3):4-9. Russian.

2. Gubergic NB, Beljaeva NV, Mozhina TL. Paralleli mezhdru nealkogol'noj zhirovoy bolezni'ju pecheni i nealkogol'noj zhirovoy bolezni'ju podzheludochnoj zhelezy: v poiskah toчек soprikosovenija ili vzgljad skvoz' prizmu metabolicheskogo sindroma [Parallels between non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic fatty pancreatic disease: in search of common ground or looking through the prism of metabolic syndrome]. Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija. 2020;183(11):80-101. Russian.

3. Efimova OV, Grigor'eva IN, Tov NL, Suvorova TS, Nepomnjashhiih DL, Romanova TI. Lipidy, pechen' i podzheludochnaja zheleza na perekrestke jepidemij metabolicheskogo sindroma i ozhirenija [Lipids, liver and pancreas at the crossroads of metabolic syndrome and obesity epidemics]. Ateroskleroz. 2020;16(4):77-84. Russian.

4. Ivashkin VT, Shifrin OS, Sokolina IA. Hronicheskij pankreatit, steatoz podzhe-ludochnoj zhelezy i steatopankreatit [Chronic pancreatitis, pancreatic steatosis and steatopancreatitis]. Moscow: Litterra; 2014. Russian.

5. Karaman JuK, Novgorodceva TP, Gvozdenko TA, Bival'kevich NV. Modelirovanie nealkogol'nogo steatogepatita [Modeling of nonalcoholic steatohepatitis]. Bjul. jeksperim. biol. i med. 2012;153(3):378-82. Russian.

6. Kytikova OJu, Novgorodceva TP, Denisenko JuK, Kovalevskij DA. Metabolicheskie i geneticheskie determinanty narushenija lipidnogo obmena pri nealkogol'noj zhirovoy bolezni pecheni [Metabolic and genetic determinants of lipid metabolism disorders in non-alcoholic fatty liver disease]. Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2020;30(2):15-25. Russian.

7. Popova JuR, Atlas EE. Korrekciya morfofunkcional'nogo sostojanija pecheni pri ozhirenii. Vestnik novyh medicinskih tehnologij [Correction of the morphofunctional state of the liver in obesity]. Jelektronnoe izdanie. 2017 [cited 2017 Jun 09];2 [about 8 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-2/2-18.pdf>. DOI: 10.12737/article_593f9b997238e9.07094355

8. Chiyanka C, Chan DFY, Hui SCN, So HK, Deng M, Yeung DKW, Nelson EAS, Chu WCW. The relationship between pancreas steatosis and the risk of metabolic syndrome and insulin resistance in Chinese adolescents with concurrent obesity and non-alcoholic fatty liver disease. Pediatr Obes. 2020;15(9):e12653. DOI:10.1111/ijpo.12653

9. Gorelick F, Lerch M. Do animal models of acute pancreatitis reproduce human disease? Cellular and molecular gastroenterology and hepatology. 2017;4 (2):251-62.

10. Ramkissoon R, Gardner TB. Pancreatic Steatosis: An Emerging Clinical Entity. Am. J. Gastroenterol. 2019;114(11):1726-34 DOI: 10.14309/ajg.0000000000000262.

11. Ulasoglu C, Tekin ZN, Akan K, Yavuz A. Does Nonalcoholic Pancreatic Steatosis Always Correlate with Nonalcoholic Fatty Liver Disease? Clin Exp Gastroenterol. 2021;14:269-75.

12. Wong S, Chin K, Suhaimi F, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. Nut. Metab. 2016;13(1):1-12. DOI:10.1186/s12986-016-0123-9.

13. Xinmin Y, Linbo Y, Xianghui F, Rajarshi M, Qing X, Jakubowska MA, Pawel FE, Wei H. Experimental Acute Pancreatitis Models: History, Current Status, and Role in Translational Research. Frontiers in Physiology. 2020;11:1-22. DOI:10.3389/fphys.2020.614591.

14. Zhukova NV, Novgorodtseva TP, Denisenko YK. Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver. Lipids Health Dis. 2014;13:49. DOI:10.1186/1476-511X-13-49.

Библиографическая ссылка:

Бочарова Н.В., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Ковалевский Д.А. Моделирование неалкогольной жировой болезни поджелудочной железы у крыс линии Вистар // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. №3. Публикация 3-1. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-3/3-1.pdf> (дата обращения: 05.05.2022). DOI: 10.24412/2075-4094-2022-3-3-1. EDN KAEXOW *

Bibliographic reference:

Bocharova NV, Denisenko YuK, Novgorotseva TP, Kovalevsky DA. Modelirovanie nealkogol'noj zhirovoy bolezni podzheludochnoj zhelezy u kryс linii Vistar [Modeling of non-alcoholic fatty pancreas disease in Wistar rats]. Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2022 [cited 2022 May 05];3 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-3/3-1.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2022-3-3-1. EDN KAEXOW

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-3/e2022-3.pdf>

**идентификатор для научных публикаций EDN (eLIBRARY Document Number) будет активен после выгрузки полной версии журнала в eLIBRARY