

13. Boltaev DE, Madaminov AS. Comparative study of the indicators of lysosomal cationic proteins in patients with urolithiasis. Bulletin of Emergency Medicine. 2011; (2): 29–31. (In Russ.) Болтаев Д. Э., Мадаминов А. С. Сравнительное изучение показателей лизосомальных катионных белков у больных с мочекаменной болезнью. Вестник экстренной медицины. 2011; (2): 29–31.

14. Magomedova KM, Arslanova RM, Osmanova PM, et al. Modern ideas about the structure and mechanisms of functioning of succinate hydrogenase. International Student Scientific Bulletin. 2020; (3): 146. (In Russ.) Магомедова К. М., Арсланова Р. М., Османова П. М., Гаджиева А. К. Современные представления о структуре и механизмах функционирования сукцинатгидрогеназы. Международный студенческий научный вестник. 2020; (3): 146.

15. Bucket GG, Khrapova MV, Dushkin MI. Features of lipid and glucose metabolism of the hypertensive line of NISAG rats. Siberian Scientific Medical Journal. 2013; (4): 5–11. (In Russ.)

Ковшик Г. Г., Храпова М. В., Душкин М. И. Особенности липидного и глюкозного обмена гипертензивной линии крыс НИСАГ. Сибирский научный медицинский журнал. 2013; (4): 5–11.

16. Petrukhin IS, Lunina EYu. Actual problems of prevention of cardiovascular diseases in Russia. Upper Volga Medical Journal. 2012; 10 (1): 3–8. (In Russ.) Петрухин И. С., Лунина Е. Ю. Актуальные проблемы профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в России. Верхневолжский медицинский журнал. 2012; 10 (1): 3–8.

17. Kostin IV, Shangina OA, Shelikhov VG. Metabolic therapy in cardiology from the standpoint of evidence-based medicine. Fundamental and Clinical Medicine. 2021; 6 (1): 60–8. (In Russ.) Костин И. В., Шангина О. А., Шелихов В. Г. Метаболическая терапия в кардиологии с позиций доказательной медицины. Фундаментальная и клиническая медицина. 2021; 6 (1): 60–8. DOI:10.23946/2500-0764-2021-6-1-60-68

Статья поступила в редакцию 09.01.2023; одобрена после рецензирования 21.11.2023; принята к публикации 24.11.2023. The article was submitted 09.01.2023; approved after reviewing 21.11.2023; accepted for publication 24.11.2023.

Информация об авторах:

Татьяна Петровна Романова — доцент кафедры гистологии, кандидат биологических наук, tanya-romanova-48@mail.ru, ORCID 0000-0001-7079-8087; **Ирина Олеговна Бугаева** — заведующая кафедрой гистологии, профессор, доктор медицинских наук, bugaeva@sgmu.ru, ORCID 0000-0003-0334-2471; **Ирина Александровна Уварова** — доцент кафедры гистологии, кандидат биологических наук, iauvarova@yandex.ru, ORCID 0000-0003-4165-3609; **Татьяна Викторовна Перевозникова** — доцент кафедры гистологии, доцент кафедры морфологии и экологии животных, кандидат биологических наук, perevoznecova@yandex.ru; **Ольга Георгиевна Шаповал** — доцент кафедры гистологии, доцент, кандидат медицинских наук, ogshapoval@gmail.com, ORCID 0000-0002-8290-7524.

Information about the authors:

Tatyana P. Romanova — Assistant Professor of the Department of Histology, PhD, tanya-romanova-48@mail.ru, ORCID 0000-0001-7079-8087; **Irina O. Bugaeva** — Head of the Department of Histology, Professor, DSc, bugaeva@sgmu.ru, ORCID 0000-0003-0334-2471; **Irina A. Uvarova** — Assistant Professor of the Department of Histology, PhD, iauvarova@yandex.ru, ORCID 0000-0003-4165-3609; **Tatyana V. Perevoznikova** — Assistant Professor of the Department of Histology, Associate Professor of the Department of animal ecology and morphology, PhD, perevoznecova@yandex.ru; **Olga G. Shapoval** — Assistant Professor of the Department of Histology, Associate Professor, PhD, ogshapoval@gmail.com, ORCID 0000-0002-8290-7524.

УДК 616–002:616–018

EDN: FAUTLY

<https://doi.org/10.15275/ssmj1904409>

Оригинальная статья

ВЛИЯНИЕ МЕТРОНИДАЗОЛА, ЗАГРУЖЕННОГО В МИКРОКАПСУЛЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА, НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЬГИНАТНОГО ГЕЛЯ В КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕГО АППАРАТА ЗУБА У КРЫС С ПАРОДОНТИТОМ

А. А. Савкина, Е. В. Ленгерт, А. В. Ермаков, Т. В. Степанова, А. Н. Иванов

ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия

INFLUENCE OF METRONIDAZOLE LOADED INTO SILVER NANOPARTICLE MICROCAPSULES ON EFFICACY OF ALGINATE GEL IN CORRECTION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL DISORDERS OF DENTAL SUPPORT APPARATUS IN RATS WITH PERIODONTITIS

A. A. Savkina, E. V. Lengert, A. V. Ermakov, T. V. Stepanova, A. N. Ivanov

Saratov State Medical University, Saratov, Russia

Для цитирования: Савкина А. А., Ленгерт Е. В., Ермаков А. В., Степанова Т. В., Иванов А. Н. Влияние метронидазола, загруженного в микрокапсулы с наночастицами серебра, на эффективность альгинатного геля в коррекции структурно-функциональных нарушений поддерживающего аппарата зуба у крыс с пародонтитом. Саратовский научно-медицинский журнал. 2023; 19 (4): 409–413. EDN: FAUTLY. DOI: <https://doi.org/10.15275/ssmj1904409>

Аннотация. Цель: оценить влияние метронидазола, загруженного в альгинатные микрокапсулы, импрегнированные серебром, на структурно-функциональные нарушения поддерживающего аппарата зуба при пародонтите. **Материал и методы.** Исследования проведены на 30 белых крысах-самцах, случайно разделенных на две группы. Группа сравнения — 15 животных с экспериментальным пародонтитом, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы без дополнительной загрузки активными веществами. Опытная группа включала 15 животных с пародонтитом, которым выполнялись аппликации на воспаленные десны геля с микрокапсулами, содержащими метронидазол. Для оценки морфологических изменений поддерживающего аппарата зуба производили забор нижней челюсти с последующим гистологическим исследованием. **Результаты.** Нанесение геля содержащего микрокапсулы с наночастицами серебра, загруженные метронидазолом на десну животных с пародонтитом приводит к частичной редукции структурных нарушений. Так, локальная

дезорганизация волокон круговой связки зуба в опытной группе наблюдалась только 5 случаях, признаки ограниченного разрежения костной ткани — в 2 случаях из 15. В группе сравнения у всех 15 животных отмечена костная резорбция и в 13 из 15 случаев имела диффузная альтерация волокон по всей круговой связке зуба. **Заключение.** Включение в состав альгинатных микрокапсул с наночастицами серебра метронидазола приводит к значительному снижению деструктивных процессов, происходящих в околозубных тканях при пародонтите.

Ключевые слова: пародонтит, наночастицы, деструкция кости

For citation: Savkina AA, Lengert EV, Ermakov AV, Stepanova TV, Ivanov AN. Influence of metronidazole loaded into silver nanoparticle microcapsules on efficacy of alginate gel in correction of structural and functional disorders of dental support apparatus in rats with periodontitis. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2023; 19 (4): 409–413. EDN: FAUTLY. DOI: <https://doi.org/10.15275/ssmj1904409> (In Russ.)

Abstract. *Objective:* To evaluate the effect of metronidazole loaded into silver impregnated alginate microcapsules on the structural and functional disorders of the dental support apparatus in periodontitis. *Material and methods.* The studies were carried out on 30 white male rats randomly divided into two groups. Comparison group — 15 animals with an experimental model of periodontitis, which underwent applications of a gel containing microcapsules without additional loading with active substances. The experimental group included 15 animals with periodontitis, which were subjected to applications of gel with microcapsules containing metronidazole on inflamed gums. To assess the morphological changes in the supporting apparatus of the tooth, the mandible was taken with subsequent histological examination. *Results.* Results. Application of a gel containing microcapsules with silver nanoparticles loaded with metronidazole on the gums of animals with periodontitis leads to partial reduction of structural disorders. Thus, local disorganization of the fibers of the circular ligament of the tooth in the experimental group was observed only 5 cases, signs of limited bone loss — in 2 cases out of 15. In the comparison group, all 15 animals showed bone resorption and in 13 of 15 cases there was diffuse fiber alteration throughout the circumferential ligament of the tooth. *Conclusion.* The inclusion of alginate microcapsules with silver nanoparticles metronidazole leads to a significant decrease in destructive processes occurring in the near-tooth tissues during periodontitis.

Keywords: periodontitis, nanoparticles, bone destruction

Введение. Воспалительные заболевания пародонта в настоящее время остаются одними из самых распространенных стоматологических патологических состояний. Это может быть связано с большим количеством этиологических факторов, вызывающих данные заболевания, а также сложными механизмами их патогенеза. Первостепенное значение в возникновении заболеваний пародонта отдается патогенной микрофлоре полости рта. Среди наиболее патогенных бактерий, которые постоянно существуют в зубодесневых карманах, выделяют грамотрицательные палочки родов *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus*. Данные микроорганизмы оказывают влияние на деструктивные процессы, происходящие в тканях пародонта, за счет прямого воздействия токсинов, выделяемых патогенной микрофлорой или опосредованно — через индукцию воспалительного процесса [1]. В ответ на действие бактериальных компонентов со стороны организма хозяина возникает воспалительная реакция, которая, с одной стороны, является проявлением внутренних защитных механизмов, а с другой — оказывает разрушительное действие на ткани пародонтального комплекса. Реализация микробного фактора в полной мере происходит только при неадекватной защитной реакции макроорганизма или ее отсутствии, в дополнении с негативными факторами внешней среды, а именно неудовлетворительным гигиеническим статусом ротовой полости, вредными привычками, несостоятельной реставрацией и наличием протезов.

В настоящий момент методы лечения воспалительных заболеваний пародонта прошли ряд успешных преобразований, однако решение данной проблемы до сих пор остается в числе актуальных. Учитывая то, что ключевую роль в этиологии пародонтита играет пародонтопатогенная флора, разработка средств для рациональной антибактериальной терапии имеет особое значение.

Ряд проведенных исследований демонстрирует, что для успешного лечения заболеваний пародонта недостаточно только хирургической обработки пародонтального кармана, также необходимо подавить воздействие микробной ассоциации. Сегодня метронидазол является препаратом, обладающим выраженным бактериостатическим эффектом в отношении широкого круга пародонтопатогенных микроорганизмов [2, 3].

Цель — оценить влияние метронидазола, загруженного в альгинатные микрокапсулы, импрегнированные серебром, на структурно-функциональные нарушения поддерживающего аппарата зуба при пародонтите.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 30 белых крысах-самцах, которые методом простой рандомизации были разделены на сравнительную и опытную группы. Группа сравнения — 15 животных с экспериментальной моделью пародонтита, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы без дополнительной загрузки активными веществами. Основная группа включала 15 животных с пародонтитом, которым выполнялись аппликации на воспаленные десны геля с микрокапсулами, содержащими метронидазол. Общая продолжительность эксперимента составляла 5 нед., на протяжении которых все животные находились в одинаковых условиях вивария без ограничений доступа к воде и корму при естественном освещении. Все манипуляции с животными выполнялись под инъекционным наркозом комбинацией Ксилантиа (ООО «Нита-Фарм», Россия) Телазола (Zoetis Inc., Испания) в дозировках 1 мг/кг и 0,1 мл/кг соответственно.

Для развития экспериментального пародонтита вшивали нерассасывающуюся полинить в десны центральных резцов нижней челюсти, аналогично описанному в исследовании [4]. На 14-е сут. после моделирования лигатуру удаляли.

Для коррекции структурно-функциональных нарушений опорного аппарата зуба у животных с пародонтитом применяли специально разработанные гидрогели. В состав гидрогелей входили полые микрокапсулы размером $4,3 \pm 0,5 \text{ }\mu\text{m}$, оболочка которых

Ответственный автор — Ангелина Альбертовна Савкина
Corresponding author — Angelina A. Savkina
Тел.: +7 (917) 3015000
E-mail: sawkina.ange@yandex.ru

содержала наночастицы серебра (AgNP), образованные в матрице альгината при добавлении раствора нитрата серебра в концентрации 0,1 М [5]. Для загрузки капсул применяли раствор метронидазола в концентрации 5 мг/мл. Животным основной группы наносили гель, содержащий метронидазол, животным сравнительной группы аналог без метронидазола. Всем животным нанесение геля выполнялось трехкратно: на 14, 16, 18-й дни эксперимента.

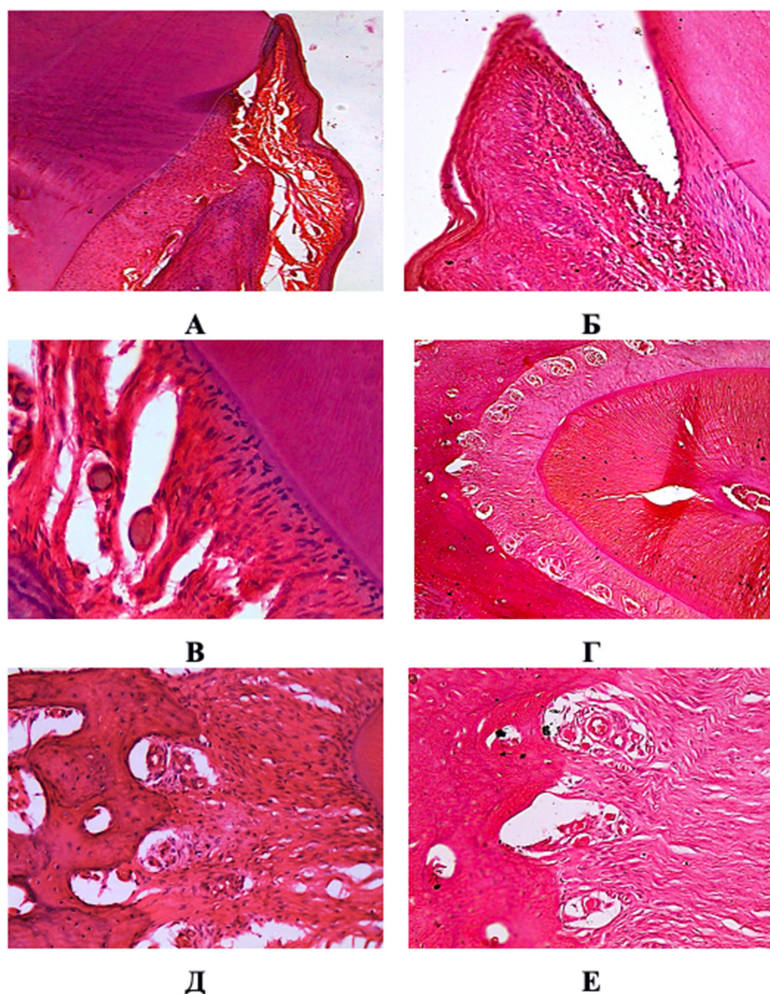
Животные были выведены из эксперимента через 5 нед. от его начала передозировкой препаратов для наркоза. Фиксацию препаратов нижней челюсти выполняли 10% раствором нейтрального формалина. Деминерализацию тканей нижней челюсти осуществляли электролитным декальцинирующим раствором («ЭргоПродакшн», Россия) на протяжении 24 ч. После деминерализации нижней челюсти проводили вырезку материала, извлекая ткани поддерживающего аппарата центральных резцов. Для изготовления блоков материал подвергался стандартной спиртовой проводке, после чего заливался в парафин. Горизонтальные (поперечные по отношению к оси резцов) срезы толщиной 5–7 мкм готовили с помощью полуавтоматического микротомы RMD 3000 (MtPoint®, Россия — Австралия), окрашивали гематоксилином Майера и эозином (ООО «Биовитрум», Россия). Для просветления срезов использовали Bio-Clear (BioOptica, Италия), а для заключения

препаратов под покровное стекло применяли Bio-Monht (BioOptica, Италия).

Исследование и микрофотографии препаратов опорного аппарата зуба выполнены в проходящем свете на микровизоре μ Vizo-103 (ООО «ЛОМО ФОННИКА», Россия). Анализ морфологических изменений включал оценку структуры круговой связки зуба, а также выявление признаков резорбции альвеолярной кости.

Результаты. Морфологический анализ препаратов поддерживающего аппарата зуба свидетельствует о том, что у всех животных с пародонтитом после аппликации геля, содержащего только микрокапсулы с AgNP в собственной пластинке десны, наблюдается отек соединительной ткани, а также неравномерное наполнение кровью сосудов. В 7 из 15 случаев отмечается увеличение кровенаполнения в венозном отделе микроциркуляторного русла. В соединительной ткани отмечается инфильтрация собственной пластинки десны лейкоцитами, преимущественно лимфоцитами. В 3 из 15 случаев лимфоцитарная инфильтрация была выражена слабо, в 12 случаях — умеренной степени выраженности.

У животных группы сравнения отмечают структурные изменения собственной связки зуба, которые характеризуются выраженными интерстициальными и периваскулярными отеками, нарушениями структуры и расположения волокон (рисунок, В).



Структурно-функциональные нарушения опорного аппарата зуба у крыс с экспериментальным пародонтитом на фоне применения гелей, содержащих микрокапсулы с AgNP (А, В, Д) без активных компонентов и (Б, Г, Е) с метронидазолом: А, Б — собственная пластинка десны; В, Г, Д, Е — круговая связка зуба

Структурная дезорганизация волокон у 13 животных обнаруживалась диффузно по всей круговой связке зуба, а у 2 носила локальный характер. У 14 из 15 животных данной группы отдельных сосудах наблюдается феномен сепарации крови.

В костной ткани альвеолы у всех животных группы сравнения наблюдается разрежение костной ткани по типу лакунарной резорбции. В участках резорбции альвеолярной кости отмечается разрастание соединительной ткани (рисунок, Д).

Морфологическое исследование препаратов сагиттального среза у животных основной группы свидетельствует о том, что после аппликации геля, содержащего микрокапсулы, загруженные метронидазолом, в собственной пластинке десны, сохраняются признаки неравномерного кровенаполнения сосудов и отек соединительной ткани, которые обнаруживаются у всех животных данной группы, так же как и при использовании аналога без активных компонентов (рисунок, А, Б). Признаки полнокровия венозного отдела микроциркуляторного русла отмечены только в 2 из 15 случаев. В собственной пластинке слизистой оболочки десны обнаружено незначительное количество лейкоцитарных элементов, преимущественно лимфоцитов. Незначительная лейкоцитарная инфильтрация обнаруживалась в 7 из 15 случаев, у большинства животных в собственной пластинке слизистой отмечаются только единичные лимфоциты.

В круговой связке зуба у животных представленной группы наблюдается упорядоченный ход волокон, в отличие от животных, которым наносился аналог геля без активных компонентов (рисунок, В, Г). Дезорганизация волокон круговой связки носила строго локальный характер (в отдельных участках связки) и была выявлена в 5 случаях из 15. Костная ткань альвеолы плотная, явления резорбтивные явления альвеолярной кости не выражены, отдельные участки разрежения зафиксированы только у 2 из 15 животных, в отличие от крыс группы сравнения (рисунок, Д, Е).

Таким образом, у белых крыс опытной группы после проведения аппликаций геля, содержащего микрокапсулы с AgNP, загруженные метронидазолом, отмечается выраженное снижение деструктивных процессов по сравнению с животными группы сравнения, которым наносился аналог без активных компонентов.

Обсуждение. Полученные в ходе эксперимента результаты подтверждают то, что гели, содержащие микрокапсулы с AgNP без дополнительной загрузки и с метронидазолом, способны корректировать структурные нарушения тканей поддерживающего аппарата зуба у крыс с пародонтитом. Это может быть обусловлено антибактериальным действием AgNP, которое, как предполагается, реализуется за счет комплекса эффектов, включая выделение ионов серебра, разрушающих оболочку и цитоплазматическую мембрану бактериальных клеток; повышение в них генерации активных форм кислорода, разрушающих клеточные мембраны и вызывающих модификацию ДНК, препятствуя репликации; ингибирование синтеза белков за счет модификации рибосом [6]. Кроме того, были продемонстрированы остеоиндуктивные свойства AgNP [7]. Ранее было показано, что AgNP в составе покрытий на основе фибрина шелка способствует ускорению созревания остеобластов, что сопровождалось выработкой щелочной фосфатазы, секрецией матрикса и кальцификацией

[8]. Собственные данные свидетельствуют о том, что влияние на нарушения, возникающие при экспериментальном пародонтите у белых крыс, разрабатанного геля зависит от содержания в составе его микрокапсул AgNP. Гель с низким содержанием AgNP более выражено снижает повышенную перфузию десен у крыс с экспериментальным пародонтитом [5], вероятно, за счет отсутствия раздражающего действия, но уступает аналогу с высоким содержанием AgNP в эффективности предотвращения деструктивных изменений тканей пародонта, в том числе резорбции альвеолярной кости [9], вероятно, за счет снижения антибактериального эффекта и остеоиндуктивных свойств. Это обуславливает необходимость загрузки в систему пролонгированного высвобождения на основе микрокапсул с AgNP активных компонентов с антибактериальным действием.

Загрузка метронидазола в микрокапсулы с AgNP выражено снижает альтерацию круговой связки зуба и резорбцию костной ткани по сравнению с аналогом без активных компонентов. Полученные данные согласуются с результатами недавних исследований других авторов, которые показывают, что соединения метронидазола с пегелированными AgNP выражено снижают продукцию матриксных металлопротеиназ 3 и 8 — ферментов, участвующих в деструкции тканей пародонтального комплекса [10].

Заключение. Включение в состав альгинатных микрокапсул с наночастицами серебра метронидазола приводит к значительному снижению деструктивных процессов, происходящих в околозубных тканях при пародонтите.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Разработка и патогенетическое обоснование применения системы пролонгированного высвобождения антибактериальных и противовоспалительных веществ для коррекции микроциркуляторных нарушений при экспериментальном пародонтите» (регистрационный номер 121032500024–2).

References (Список источников)

- Sharma N, Bhatia S, Sodhi AS, Batra N. Oral microbiome and health. *AIMS Microbiol.* 2018; 4 (1): 42–66. DOI:10.3934/microbiol.2018.1.42
- Zussman M, Zilberman M. Injectable metronidazole-eluting gelatin-alginate hydrogels for local treatment of periodontitis. *J Biomater Appl.* 2022; 37 (1): 166–79. DOI:10.1177/08853282221079458
- Feres M, Retamal-Valdes B, Fermiano D, et al. Microbiome changes in young periodontitis patients treated with adjunctive metronidazole and amoxicillin. *J Periodontol.* 2021; 92 (4): 467–78. DOI:10.1002/JPER.20–0128
- Ionel A, Lucaci O, Moga M, et al. Periodontal disease induced in Wistar rats — experimental study. *HVM Bioflux.* 2015; 7 (2): 90–5.
- Lengert EV, Savkina AA, Ermakov AV, et al. Influence of the new formulation based on silver alginate microcapsules loaded with tannic acid on the microcirculation of the experimental periodontitis in rats. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021; (126): 112144. DOI:10.1016/j.msec.2021.112144
- Yin IX, Zhang J, Zhao IS, et al. The Antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomedicine.* 2020; 15: 2555–62. DOI:10.2147/IJN.S246764
- Eivazzadeh-Keihan R, Bahojb Noruzi E, Khanmohammadi Chenab K, et al. Metal-based nanoparticles for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* 2020; 14 (12): 1687–714. DOI:10.1002/term.3131
- Zhou W, Jia Z, Xiong P, et al. Bioinspired and biomimetic AgNPs/gentamicin-embedded silk fibroin coatings for robust

antibacterial and osteogenetic applications. ACS Appl Mater Interfaces. 2017; 9 (31): 25830–46. DOI:10.1021/acsami.7b06757

9. Savkina AA, Lengert EV, Ermakov AV, et al. Influence of the concentration of silver nanoparticles in alginate microcapsules on the implementation of their effects on morphological changes in periodontitis. Saratov Scientific Medical Journal. 2022; 18 (3): 404–8. (In Russ.) Савкина А. А., Ленгерт Е. В., Ермаков А. В. и др. Влияние концентрации наночастиц серебра

в альгинатных микрокапсулах на реализацию их эффектов на морфологические изменения при пародонтите. Саратовский научно-медицинский журнал. 2022; 18 (3): 404–8.

10. Martinez-Gutierrez F, Boegli L, Agostinho A, et al. Antibiofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. Biofouling. 2013; 29 (6): 651–60. DOI:10.1080/08927014.2013.794225

Статья поступила в редакцию 17.08.2023; одобрена после рецензирования 05.09.2023; принята к публикации 24.11.2023.
The article was submitted 17.08.2023; approved after reviewing 05.09.2023; accepted for publication 24.11.2023.

Информация об авторах:

Ангелина Альбертовна Савкина — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, sawkina.ange@yandex.ru, ORCID 0000-0003-2357-400X; **Екатерина Владимировна Ленгерт** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, lengertkatrin@mail.ru, ORCID 0000-0002-6447-2811; **Алексей Вадимович Ермаков** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, oualeksej@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8105-5932; **Татьяна Вячеславовна Степанова** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, snil-sgmu@mail.ru, ORCID 0000-0001-8439-8033; **Алексей Николаевич Иванов** — заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией, доктор медицинских наук, lex558452@gmail.com, ORCID 0000-0003-4061-5221.

Information about the authors:

Angelina A. Savkina — Junior Research Scientist of Central Scientific Research Laboratory, sawkina.ange@yandex.ru, ORCID 0000-0003-2357-400X; **Ekaterina V. Lengert** — Junior Research Scientist of Central Scientific Research Laboratory, lengertkatrin@mail.ru, ORCID 0000-0002-6447-2811; **Alexey V. Ermakov** — Junior Research Scientist of Central Scientific Research Laboratory, oualeksej@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8105-5932; **Tatyana V. Stepanova** — Junior Research Scientist of Central Scientific Research Laboratory, snil-sgmu@mail.ru, ORCID 0000-0001-8439-8033; **Alexey N. Ivanov** — Head of Central Scientific Research Laboratory, DSc, lex558452@gmail.com, ORCID 0000-0003-4061-5221.

