

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННО-СШИТОГО ПОЛИМЕРА В ПРОФИЛАКТИКЕ РАЗВИТИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ЭПИДУРАЛЬНОГО ФИБРОЗА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

РЕЗЮМЕ

Эрдынеев К.Ц.^{1,2},
Сороковиков В.А.¹,
Самбуев Д.Н.²,
Саганов В.П.⁴,
Дамбаев Б.Б.²,
Ларионов С.Н.¹,
Гольдберг О.А.¹,
Лепехова С.А.¹,
Степанов И.А.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

² ГАУЗ «Республиканская клиническая больница скорой медицинской помощи им. В.В. Ангапова» (670042, г. Улан-Удэ, пр. Строителей, 1, Респ. Бурятия, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

⁴ ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова» (670000, Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Республика Бурятия, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Степанов Иван Андреевич,
e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

Введение. Эпидуральный фиброз представляет собой актуальную проблему современной спинальной хирургии и ортопедии. Формирование соединительной ткани в эпидуральном пространстве после выполнения оперативных вмешательств на позвоночном столбе неизбежно приводит к адгезии последней к твердой мозговой оболочке и компрессии невралгических структур с последующим формированием клиничко-неврологической симптоматики. Поиск литературных источников в отечественных и зарубежных научных базах данных продемонстрировал наличие нескольких работ, изучающих эффективность барьерных способов профилактики развития эпидурального фиброза. Стоит отметить, что результаты указанных исследований неоднозначны и во многом противоречивы.

Цель исследования – изучить эффективность использования пространственно-сшитого полимера в профилактике развития послеоперационного поясничного эпидурального фиброза в эксперименте.

Материал и методы. В исследование включено 26 самцов крыс линии Wistar (средняя масса тела составила $338,5 \pm 9,07$ г), которые разделены на две группы: I группа (контрольная, $n = 12$): животным выполнена операция ламинэктомии на уровне тел позвонков $L_{VII} - S_I$ без аппликации пространственно-сшитого полимера; II группа (экспериментальная, $n = 14$): животным выполнена операция ламинэктомии на уровне тел позвонков $L_{VII} - S_I$ с последующей аппликацией пространственно-сшитого полимера на твердую мозговую оболочку. Изучены морфологические и инструментальные параметры.

Результаты. Отмечены достоверные различия в степени выраженности эпидурального фиброза ($\chi^2 = 14,846$, $p = 0,003$), количестве новообразованных сосудов ($F = 14,371$, $p < 0,001$), количестве фибробластов ($F = 11,158$, $p < 0,001$), а также в степени выраженности стеноза позвоночного канала по данным мультисрезовой компьютерной томографии ($\chi^2 = 17,207$, $p = 0,002$) между контрольной и экспериментальной группами животных.

Заключение. Аппликация пространственно-сшитого полимера на твердую мозговую оболочку представляет собой эффективный способ профилактики развития послеоперационного эпидурального фиброза.

Ключевые слова: эпидуральный фиброз, профилактика, пространственно – сшитый полимер, аппликация.

Для цитирования: Эрдынеев К.Ц., Сороковиков В.А., Самбуев Д.Н., Саганов В.П., Дамбаев Б.Б., Ларионов С.Н., Гольдберг О.А., Лепехова С.А., Степанов И.А. Эффективность использования пространственно-сшитого полимера в профилактике развития послеоперационного эпидурального фиброза: экспериментальное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6 (3): 174–184. doi: 10.29413/ABS. 2021–6.3.18

Статья поступила: 25.02.2021

Статья принята: 11.05.2021

Статья опубликована: 13.08.2021

THE EFFECTIVENESS OF SPATIALLY CROSS-LINKED POLYMER IN THE POSTOPERATIVE EPIDURAL FIBROSIS PREVENTION: AN EXPERIMENTAL STUDY

Erdyneev K.Ts.^{1,2},
Sorokovikov V.A.¹,
Sambuev D.N.¹,
Saganov V.P.⁴,
Dambaev B.B.²,
Larionov S.N.¹,
Gol'dberg O.A.¹,
Lepekhova S.A.¹,
Stepanov I.A.^{1,3}

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolution st., 1, 664003, Irkutsk, Russian Federation)

² Republican Clinical Hospital of Emergency Medicine named after V.V. Angapov (Stroiteley ave., 1, 670042, Ulan-Ude, Republic of Buryatia, Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya st., 1, 664003, Irkutsk, Russian Federation)

⁴ Buryat State University named after D. Banzarov (Smolina st., 24a, 670000, Ulan-Ude, Republic of Buryatia, Russian Federation)

Corresponding author:

Ivan A. Stepanov,
e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

ABSTRACT

Introduction. Epidural fibrosis is an urgent problem in modern spinal surgery and orthopedics. The formation of connective tissue in the epidural space after performing surgical interventions on the spinal column inevitably leads to adhesion of the latter to the dura mater and compression of neural structures, followed by the formation of clinical and neurological symptoms. The search for literary sources in domestic and foreign scientific databases has demonstrated the presence of several works studying the effectiveness of barrier methods for preventing the development of epidural fibrosis. It should be noted that the results of these studies are ambiguous and largely contradictory.

The purpose was to study the effectiveness of using a spatially cross-linked polymer in the postoperative lumbar epidural fibrosis prevention in an experiment.

Materials and methods. The study included 26 male Wistar rats (average body weight 338.5 ± 9.07 g), which were divided into two groups: Group I (control, $n = 12$): animals underwent laminectomy at the level of vertebral bodies $L_{VII} - S_I$ without application of spatially crosslinked polymer; Group II (experimental, $n = 14$): animals underwent laminectomy at the level of vertebral bodies $L_{VII} - S_I$ followed by application of a spatially cross-linked polymer to the dura mater. The morphological and instrumental parameters were studied.

Results. Significant differences were noted in the severity of epidural fibrosis ($\chi^2 = 14.846$, $p = 0.003$), the number of newly formed vessels ($F = 14.371$, $p < 0.001$), the number of fibroblasts ($F = 11.158$, $p < 0.001$), as well as in the severity of vertebral stenosis channe I according to multislice computed tomography ($\chi^2 = 17.207$, $p = 0.002$) between the control and experimental groups of animals.

Conclusion. Application of a spatially cross-linked polymer to the dura mater is an effective way to prevent the development of postoperative epidural fibrosis.

Key words: epidural fibrosis, prevention, spatially cross-linked polymer, application.

For citation: Erdyneev K.Ts., Sorokovikov V.A., Sambuev D.N., Saganov V.P., Dambaev B.B., Larionov S.N., Gol'dberg O.A., Lepekhova S.A., Stepanov I.A. The effectiveness of spatially cross-linked polymer in the postoperative epidural fibrosis prevention: an experimental study. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 174-184. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.18

Received: 25.02.2021

Accepted: 11.05.2021

Published: 13.08.2021

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день эпидуральный фиброз представляет собой актуальную проблему современной спинальной хирургии и ортопедии [1,2]. Формирование соединительной ткани в эпидуральном пространстве после выполнения оперативных вмешательств на позвоночном столбе неизбежно приводит к адгезии последней к твердой мозговой оболочке и компрессии невралжных структур с последующим формированием клиничко-неврологической симптоматики [3]. Клинические проявления у пациентов с эпидуральным фиброзом являются одной из ведущих причин выполнения повторных оперативных вмешательств на позвоночнике. Важно отметить, что выполнение ревизионных хирургических вмешательств на позвоночнике сопряжено с высокой частотой встречаемости нежелательных явлений, а также снижением субъективной удовлетворенности пациентами выполненным оперативным вмешательством и уровнем их качества жизни [4, 5].

В настоящее время изучена эффективность ряда лечебных и профилактических методов при эпидуральном фиброзе, в том числе проанализирована активность ряда лекарственных средств. Среди перечисленных лечебно-профилактических методов особую эффективность у пациентов с эпидуральным фиброзом продемонстрировали такие способы как введение глюкокортикостероидных гормонов в эпидуральное пространство, методики адгезиолизиса, радиочастотной абляции, нейромодуляции, а также применение различных противосудорожных лекарственных препаратов, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств, антидепрессантов и наркотических анальгетиков [6–8]. Тем не менее, I уровень доказательности в лечении клиничко-неврологических проявлений эпидурального фиброза имеют лишь габапентин, адгезиолизис и введение глюкокортикостероидных

гормонов в эпидуральное пространство [9]. Известны экспериментальные исследования, направленные на изучение антифибротической активности человеческого фибринолизина, митомицина С, метилпреднизолона, дексаметазона, прометазина и ряда других лекарственных препаратов [10].

Поиск литературных источников в отечественных и зарубежных научных базах данных продемонстрировал наличие нескольких работ, изучающих эффективность барьерных способов профилактики развития эпидурального фиброза (жировая аутологичная ткань, саморассасывающаяся желатиновая губка, целлюлозная сетка, гиалуроновая кислота и прочие биосинтетические полимерные материалы). Стоит отметить, что результаты указанных исследований неоднозначны и во многом противоречивы, что и явилось побудительным моментом к проведению настоящего экспериментального исследования.

Цель исследования – изучить эффективность использования пространственно-сшитого полимера в профилактике развития послеоперационного поясничного эпидурального фиброза в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Выполнено экспериментальное исследование на животных моделях.

ЖИВОТНЫЕ МОДЕЛИ И ГРУППЫ

Крысы линии Wistar (аутбредные, белые, альбиносы) содержались в контролируемой окружающей среде при температуре 22–25°C с соответствующим режимом влажности и 12-часовым циклом свет/темнота. Животным предоставлен свободный доступ к пище и воде. В исследование включено 26 самцов крыс линии Wistar (средняя масса тела составила 338,5 ± 9,07 г), которые разделены на две группы:

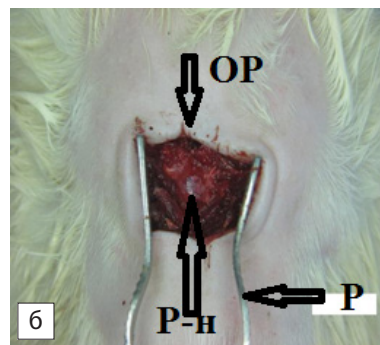
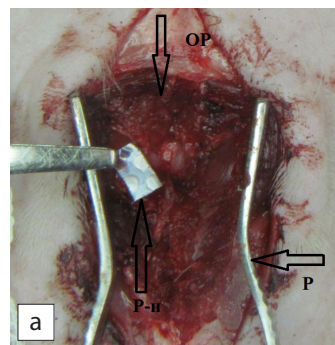


РИС. 1. Этапы выполнения экспериментального хирургического вмешательства: а – выполнена ламинэктомия, обнажена твердая мозговая оболочка, подготовлена пластинка пространственно-сшитого полимера «Реперен», б – пластинка пространственно-сшитого полимера «Реперен» апплицирована на твердую мозговую оболочку.

FIG. 1. Stages of experimental surgical intervention: a – laminectomy was performed, the dura mater was exposed, a plate of spatially crosslinked polymer «Reperen» was prepared, b – a plate of spatially crosslinked polymer «Reperen» was applied to the dura mater.

Примечание. OP – операционная рана, P – ранорасширитель, P-II – «Реперен».

– I группа (контрольная, n=12): животным выполнена операция ламинэктомии на уровне тел позвонков L_{VII} – S_I без аппликации пространственно-сшитого полимера с целью профилактики развития послеоперационного эпидурального фиброза;

– II группа (экспериментальная, n = 14): животным выполнена операция ламинэктомии на уровне тел позвонков L_{VII} – S_I с последующей аппликацией пространственно-сшитого полимера «Reperen» (IconLab Inc., Нижний Новгород, Россия) на твердую мозговую оболочку с целью профилактики развития послеоперационного эпидурального фиброза.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ

Исследование выполнено на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием Иркутского научного центра хирургии и травматологии (Иркутск, Россия).

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование выполнено в 2011 году.

ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Аналгезия и анестезия животных осуществлялись с помощью внутримышечной инъекции следующих лекарственных средств: атропин 0,1% – 50 мг/кг, дроперидол 1,5 мг/кг и кетамин 35 мг/кг. Операция ламинэктомии выполнялась по общепринятой хирургической методике с использованием микрохирургической техники и увеличением микроскопа с целью сохранения целостности твердой мозговой оболочки. Аппликация пространственно-сшитого полимера с целью профилактики развития послеоперационного эпидурального фиброза осуществлялась под увеличением микроскопа с максимальным покрытием всей поверхности обнаженной твердой мозговой оболочки (рис. 1а, б).

ИСХОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценивались следующие морфологические и инструментальные параметры: (1) степень выраженности эпидурального фиброза, (2) количество новообразованных сосудов, (3) количество фибробластов, а также (4) степень выраженности стеноза позвоночного канала по данным мультисрезовой компьютерной томографии.

МЕТОДЫ РЕГИСТРАЦИИ ИСХОДОВ

Бинокулярная световая микроскопия выполнялась с помощью микроскопа «Olympus BX51» (Olympus, Токио, Япония) при окрашивании исследуемых препаратов гематоксилином и эозином. Степень выраженности фиброза в эпидуральном пространстве оценивалась по оригинальной балльной шкале двумя независимыми врачами-патологоанатомами (0–1 балл: отсутствие признаков эпидурального фиброза; 2–4 балла: незначительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве, минимальная адгезия к твердой мозговой оболочке; 5–7 баллов: умеренное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве, выраженная адгезия к твердой мозговой оболочке; 8–10 баллов: значительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве, резко выраженная адгезия к твердой мозговой оболочке с компрессией невралных структур). Количество новообразованных сосудов и фибробластов подсчитывалось при изучении пяти произвольных полей зрения с помощью видеокамеры «Leica CCD camera DFC420» (Leica Microsystems Imaging Solutions, Кембридж, Великобритания), соединенной со световым микроскопом и при ×400 увеличении. Степень выраженности стеноза позвоночного канала оценивалась в процентном соотношении по данным мультисрезовой компьютерной томографии на аксиальных срезах (рис. 2 а, б). Полученные результаты исследования оценивались на 15-, 30- и 100-е сутки наблюдения.

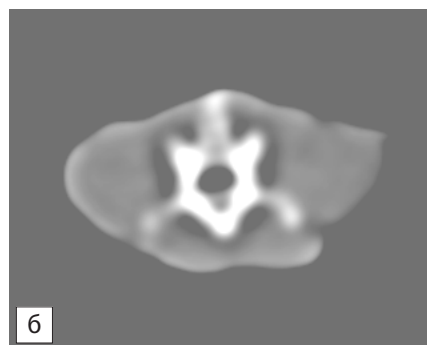
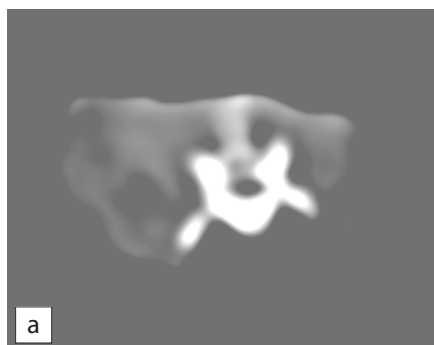


РИС. 2.

Данные мультисрезовой компьютерной томографии, аксиальные срезы, 100-е сутки наблюдения: а – отмечаются признаки стенозирования (42 %) позвоночного канала сформированной рубцовой тканью (результаты исследования животного контрольной группы), б – признаков стенозирования позвоночного канала не выявлено (результаты исследования животного экспериментальной группы)

FIG. 2.

Data of multisection computed tomography, axial sections, 100th day of observation: a – signs of stenosis (42 %) of the spinal canal formed by scar tissue (results of the study of the animal of the control group), b – signs of stenosis of the spinal canal were not detected (results of the study of the animal of the experimental group)

ТАБЛИЦА 1
СРАВНЕНИЕ СТЕПЕНЕЙ ВЫРАЖЕННОСТИ ЭПИДУРАЛЬНОГО ФИБРОЗА И СТЕНОЗА ПОЗВОНОЧНОГО КАНАЛА МЕЖДУ ИССЛЕДУЕМЫМИ ГРУППАМИ ЖИВОТНЫХ

TABLE 1
COMPARISON OF THE SEVERITY OF EPIDURAL FIBROSIS AND SPINAL CANAL STENOSIS BETWEEN THE STUDIED GROUPS OF ANIMALS

Параметры	χ^2	df	p
Степень эпидурального фиброза	14,846	3	0,003
Степень стеноза позвоночного канала	17,207	3	0,002

Примечание. χ^2 – хи-квадрат, df – степени свободы.

ЭТИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Протокол исследования одобрен этическими комитетами Иркутского научного центра хирургии (протокол №5 от 11.05.2011 г.) и травматологии и Иркутского государственного медицинского университета (протокол № 14/56 от 16.05.2011 г.). Опыты на животных выполнены в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных, утвержденных Приказом Министерства здравоохранения СССР № 742 от 13.11.1984 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.1985 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных, а также в соответствии с международными рекомендациями по проведению экспериментальных исследований на животных моделях (ARRIVE, Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) [11].

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2016 (Microsoft

Corp., Redmond, Вашингтон, США) и SPSS 22.0 (IBM Corp. Armonk, Нью-Йорк, США). Изучение степени выраженности эпидурального фиброза выполнено с помощью теста Крускала-Уоллиса.

Анализ количества новообразованных сосудов и фибробластов, а также степени выраженности стеноза позвоночного канала осуществлен с помощью теста ANOVA. Тест Манна-Уитни с поправкой

Бонферрони выполнен с целью сравнения изученных морфологических и инструментальных данных между исследуемыми группами животных. Достоверными считались различия $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ДАННЫЕ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Признаков инфекции области экспериментального хирургического вмешательства не обнаружено ни в одной из изучаемых групп животных. В I группе животных отмечено значительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве и резко выраженная адгезия к твердой мозговой оболочке с компрессией невральных структур. Также во многих полях зрения выявлены признаки мононуклеарной инфильтрации

ТАБЛИЦА 2
СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ СТЕПЕНИ ВЫРАЖЕННОСТИ ЭПИДУРАЛЬНОГО ФИБРОЗА, СТЕПЕНИ СТЕНОЗА ПОЗВОНОЧНОГО КАНАЛА, А ТАКЖЕ КОЛИЧЕСТВ НОВООБРАЗОВАННЫХ СОСУДОВ И ФИБРОБЛАСТОВ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 2
AVERAGE VALUES OF THE SEVERITY OF EPIDURAL FIBROSIS, THE DEGREE OF SPINAL CANAL STENOSIS, AS WELL AS THE NUMBER OF NEWLY FORMED VESSELS AND FIBROBLASTS IN THE STUDIED GROUPS OF ANIMALS

Параметры	Минимальное значение	Максимальное значение	Среднее значение	SD
Степень эпидурального фиброза	4	7	5	0,67
Количество новообразованных сосудов	11	21	15,6	3,44
Количество фибробластов	28	36	29,2	3,13
Степень стеноза позвоночного канала	17	86	37,7	15,2

Примечание. SD – стандартное отклонение.

и некроза мышечной ткани. Во II группе исследуемых животных при детальном изучении данных световой микроскопии верифицировано незначительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве с минимальной адгезией последней к твердой мозговой оболочке (рис. 3а, б).

СТЕПЕНЬ ВЫРАЖЕННОСТИ ЭПИДУРАЛЬНОГО ФИБРОЗА
Проведенный статистический анализ данных наглядно продемонстрировал наличие достоверных различий в степени выраженности эпидурального фиброза между контрольной и экспериментальной группами животных ($\chi^2 = 14,846$, $p = 0,003$) (табл. 1, 2, рис. 4 а).

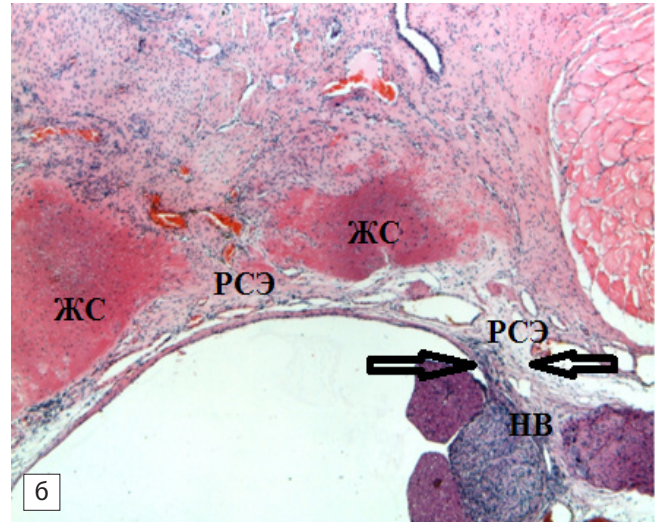
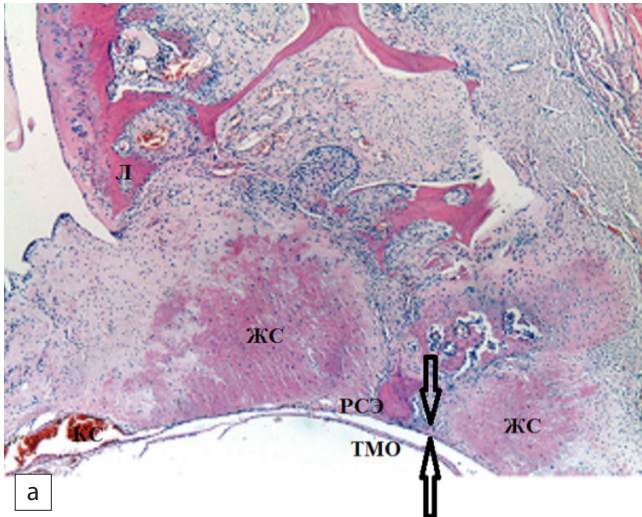


РИС. 3.
Данные световой микроскопии исследуемых групп животных, 100-е сутки наблюдения: а – незначительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве с минимальной адгезией последней к твердой мозговой оболочке (результаты гистологического исследования животного экспериментальной группы), б – значительное разрастание соединительной ткани в эпидуральном пространстве, резко выраженная адгезия к твердой мозговой оболочке с компрессией нервных структур (результаты гистологического исследования животного контрольной группы). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 40$

FIG. 3.
Light microscopy data of the studied groups of animals, 100th day of observation: a – slight growth of connective tissue in the epidural space with minimal adhesion of the latter to the dura mater (results of histological examination of the animal of the experimental group), b – significant growth of connective tissue in the epidural space, pronounced adhesion to the dura mater with compression of neural structures (results of histological examination of the animal of the control group). Staining with hematoxylin and eosin, $\times 40$.

Примечание. ЖС – желтая связка, ТМО – твердая мозговая оболочка, РСЭ – рубцово-спаечные эпидуральные разрастания

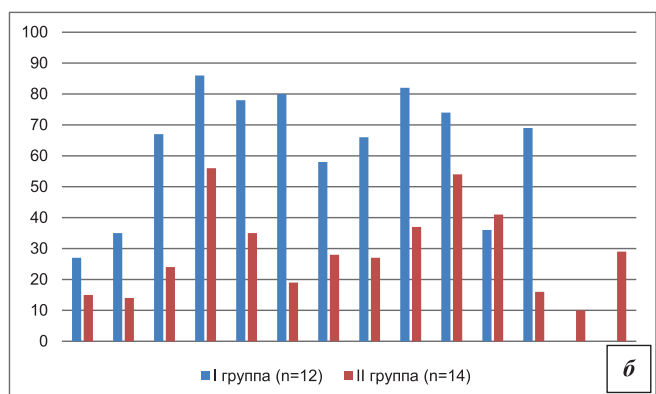
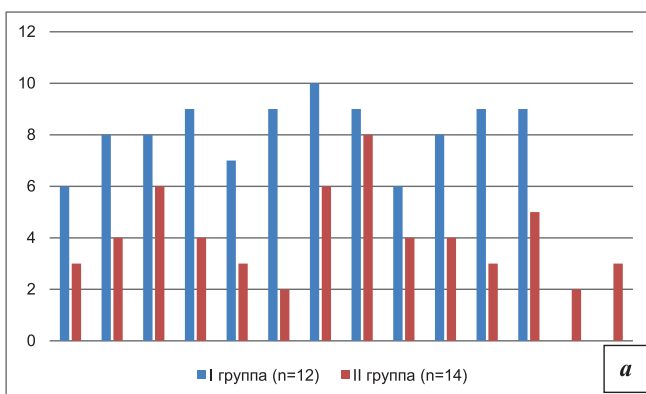


РИС. 4.
Степени выраженности эпидурального фиброза (4а) и стеноза позвоночного канала (4б) у исследуемых групп животных: объяснение в тексте.

FIG. 4.
The severity of epidural fibrosis (4a) and spinal canal stenosis (4b) in the studied groups of animals: an explanation in the text.

КОЛИЧЕСТВО НОВООБРАЗОВАННЫХ СОСУДОВ

Количество новообразованных сосудов в I группе животных статистически значимо превышало таковой показатель во II группе ($F=14,371$, $p<0,001$) (табл. 1, 3, рис. 5 а).

КОЛИЧЕСТВО ФИБРОБЛАСТОВ

Проведенный статистический анализ данных также наглядно показал наличие достоверных различий в количестве фибробластов между контрольной и экспериментальной группами животных ($F=11,158$, $p<0,001$) (табл. 1, 3, рис. 5б).

СТЕПЕНЬ ВЫРАЖЕННОСТИ СТЕНОЗА ПОЗВОНОЧНОГО КАНАЛА

Степень выраженности стеноза позвоночного канала по данным мультисрезовой компьютерной томографии на аксиальных срезах в контрольной группе животных статистически значимо превышала таковой показатель в экспериментальной группе ($\chi^2 = 17,207$, $p = 0,002$) (табл. 1, 2, рис. 4б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже отмечалось ранее, проведенный поиск литературных источников в базах данных Pubmed, Medline, EMBASE, Cochrane Library и eLibrary продемонстрировал наличие целого ряда исследований, посвященных изучению эффективности различных биосинтетических полимеров и лекарственных средств в профилактике развития послеоперационного эпидурального фиброза. Так, в сообщении Isik и соавт. [12] показано, что использование геля гиалуроновой кислоты способствует эффективному снижению степени формирования рубцово-спаечных разрастаний в эпидуральном пространстве, а также снижает плотность уже сформированной соединительной ткани. Кроме того, исследователи утверждают, что достоверных различий в эффективности гиалуроновой кислоты и его высокомолекулярного соединения не отмечено ни при гистологическом, ни при патобиохимическом

анализах образцов сформированной соединительной ткани. Demirel и соавт. [13] наглядно продемонстрировали, что локальное применение фибрин-тромбоцитарного клея в эксперименте у крыс обеспечивает полноценный гемостаз в ране, предотвращает активный выход из просвета сосудов фибробластов, значительно снижает интенсивность воспаления за счет содержащихся в нем противовоспалительных биологически активных веществ и цитокинов и тем самым предупреждает развитие эпидуральных рубцово-спаечных разрастаний. Anitua и соавт. [14] также подтвердили выраженное антиадгезивное и антифибротическое действия насыщенного тромбоцитами фибринового клея. Антифибротическая и антиадгезивная эффективность хитозана и его соединений продемонстрирована в экспериментальных работах Carvalho и соавт. [15] и Li и соавт. [16]. Carvalho и соавт. [15] наглядно доказали, что аппликация хитозановой мембраны на твердую мозговую оболочку у кроликов эффективно снижает степень выраженности эпидурального фиброза. Li и соавт. [16] также подтвердили высокую антифибротическую активность локального применения соединения хитозана в комбинации с L-глутамината у кроликов, перенесших ламинэктомию.

Одним из наиболее перспективных направлений в профилактике развития послеоперационного эпидурального фиброза выступает местное применение химиотерапевтических лекарственных средств. Ozturk и соавт. [9] доказали, что тамоксифен достоверно уменьшает степень разрастания соединительной ткани и подавляет активность воспалительного процесса в эпидуральном пространстве в сравнении с аппликацией гемостатической губки «Spongostan» (Ethicon, США), путем нарушения процесса транскрипции рибонуклеиновой кислоты, торможения клеточной пролиферации и продукции клеточных факторов роста (трансформирующий и инсулиноподобный факторы роста). В работах Lee и соавт. [17] и Wang и соавт. [18] изучена эффективность локального использования комбинации митомицин С/полиэтиленгликоль. Авторы

ТАБЛИЦА 3
СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВ НОВООБРАЗОВАННЫХ СОСУДОВ И ФИБРОБЛАСТОВ МЕЖДУ ИССЛЕДУЕМЫМИ ГРУППАМИ ЖИВОТНЫХ

Параметры	F	df	p
Степень эпидурального фиброза	13,344	4	<0,001
Степень стеноза позвоночного канала	11,102	4	<0,001

TABLE 3
COMPARISON OF THE AMOUNTS OF NEWLY FORMED VESSELS AND FIBROBLASTS BETWEEN THE STUDIED GROUPS OF ANIMALS

Parameters	F	df	p
Degree of epidural fibrosis	13,344	4	<0,001
Degree of stenosis of the vertebral canal	11,102	4	<0,001

Примечание. F – число F, df – степени свободы.

исследований отметили, что местное применение комбинации митомицин С/полиэтиленгликоль позволяет эффективно снижать миграцию из просвета сосудистого русла и пролиферацию фибробластов в эпидуральное пространство, а полиэтиленгликоль обеспечивает дозированное высвобождение митомицина С. Важно отметить, что дозированное высвобождение митомицина С позволяет практически полностью нивелировать развитие нежелательных лекарственных реакций [19].

В настоящем исследовании наглядно показано, что аппликация пространственно-сшитого полимера «Ререпен» (IconLab Inc., Нижний Новгород, Россия) на твердую мозговую оболочку способствует эффективной профилактике развития послеоперационного эпидурального фиброза. Данное заключение подтверждается следующими результатами патоморфологического и инструментального методов исследований. Степень выраженности эпидурального фиброза и степень стеноза позвоночного канала в контрольной группе животных достоверно превышали таковые показатели в группе животных, у которых апплицировался на твердую мозговую оболочку биологический полимер. Количество новообразованных сосудов и количество фибробластов в контрольной группе животных также статистически значимо превышали таковые показатели в экспериментальной группе животных. Полученные данные позволяют предположить, что аппликация пространственно-сшитого полимера на твердую мозговую оболочку значительно ограничивает очаг воспаления, препятствует миграции фибробластов и процессу неоангиогенеза, необходимого для формирования грубой рубцовой соединительной ткани в эпидуральном пространстве.

В сообщении Akkurt и соавт. [20], во многом схожем по дизайну с настоящим исследованием, продемонстрирована высокая антифибротическая и антиадгезивная активность биологических полимерных барьеров в эксперименте на крысах, что полностью согласуется с результатами проведенного нами экспе-

риментального наблюдения. Кроме того, исследователи утверждают, что аппликация на твердую мозговую оболочку биополимеров может применяться в качестве способа профилактики послеоперационной ликвореи [20]. Многообещающие результаты получены при локальном использовании антибактериальных лекарственных средств и биологических полимеров в качестве метода профилактики развития инфекции области хирургического вмешательства после выполнения оперативных вмешательств на позвоночнике [21–23].

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование имеет ряд ограничений, которые необходимо обозначить. Во-первых, в экспериментальное исследование включено незначительное количество животных, что не могло не повлиять на результаты статистического анализа данных. Во-вторых, в наблюдении не изучалась двигательная активность животных в различные периоды наблюдения. И в третьих, в работе не использован иммуногистохимический метод исследования с целью верификации маркеров воспаления и фиброза. Безусловно, для более объективного изучения антифибротической и антиадгезивной активности пространственно-сшитого полимера, необходимо проведение экспериментальных исследований с включением большего количества животных и обязательным изучением иммуногистохимических маркеров воспалительного процесса, неоангиогенеза и фиброза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование наглядно продемонстрировало, что аппликация пространственно-сшитого полимера на твердую мозговую оболочку представляет собой эффективный способ профилактики развития послеоперационного эпидурального фиброза. Дальнейшее изучение антифибротической и антиадгезивной активности биологических полимеров в эксперименте, позволит уже в ближайшем будущем внедрить использование последних

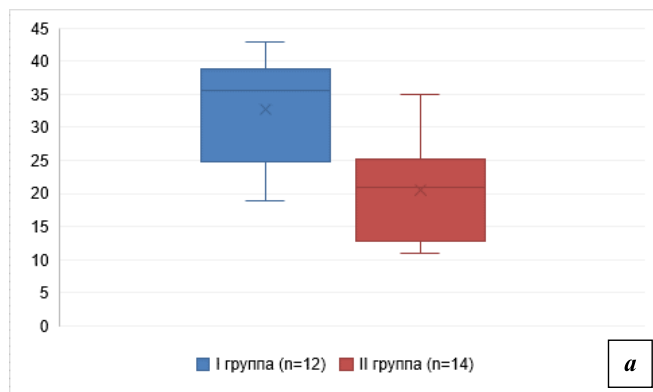


РИС. 5. Средние значения количеств новообразованных сосудов (а) и фибробластов (б) у исследуемых групп животных: объяснение в тексте.

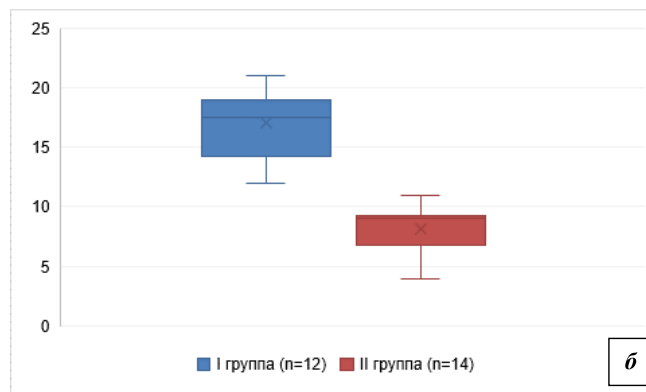


FIG. 5. Average values of the number of newly formed vessels (a) and fibroblasts (b) in the studied groups of animals: explanation in the text.

в широкой клинической практике спинальных хирургов и ортопедов.

Финансирование

Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Samy Abdou M, Hardy RW Jr. Epidural fibrosis and the failed back surgery syndrome: history and physical findings. *Neurol Res.* 1999; 21 (1): 5–8. doi: 10.1080/01616412.1999.11758603
2. Masopust V, Häckel M, Netuka D, Bradác O, Rokyta R, Vrabec M. Postoperative epidural fibrosis. *Clin J Pain.* 2009; 25 (7): 600–606. doi: 10.1097/AJP.0b013e3181a5b665
3. Животенко А.П., Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В., Негреева М.Б., Потапов В.Э., Горбунов А.В. Современные представления об эпидуральном фиброзе (обзор литературы). *Acta Biomed Scient.* 2017; 2 (6): 27–33. doi: org/10.12737/article_5a0a7f9e412601.50968513
4. Clancy C, Quinn A, Wilson F. The aetiologies of Failed Back Surgery Syndrome: A systematic review. *J Back Musculoskeletal Rehabil.* 2017; 30 (3): 395–402. doi: 10.3233/BMR-150318
5. Mohi Eldin MM, Abdel Razek NM. Epidural Fibrosis after Lumbar Disc Surgery Prevention and Outcome Evaluation. *Asian Spine Journal.* 2015; 9 (3): 370–385. doi: 10.4184/asj.2015.9.3.370
6. Baber Z, Erdek MA. Failed back surgery syndrome: current perspectives. *J Pain Res.* 2016; 7 (9): 979–987. doi: 10.2147/JPR.S92776
7. Liu J, Ni B, Zhu L, Yang J, Cao X, Zhou W. Mitomycin C-polyethylene glycol controlled-release film inhibits collagen secretion and induces apoptosis of fibroblasts in the early wound of a postlaminectomy rat model. *Spine J.* 2010; 10 (5): 441–447. doi: 10.1016/j.spinee.2010.02.017
8. Amirdelfan K, Webster L, Poree L, Sukul V, McRoberts P. Treatment Options for Failed Back Surgery Syndrome Patients With Refractory Chronic Pain: An Evidence Based Approach. *Spine (Phila Pa 1976).* 2017; 42 (14): 41–52. doi: 10.1097/BRS.0000000000002217
9. Ozturk Y, Bozkurt I, Yaman ME, et al. Histopathologic Analysis of Tamoxifen on Epidural Fibrosis. *World Neurosurg.* 2018; 111: e941–e948. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.004
10. Häckel M, Masopust V, Bojar M, Ghaly Y, Horínek D. The epidural steroids in the prevention of epidural fibrosis: MRI and clinical findings. *Neuro Endocrinol Lett.* 2009; 30 (1): 51–55
11. Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol.* 2020; 18 (7): e3000411. doi: 10.1371/journal.pbio.3000411
12. Isik S, Taşkapılıoğlu MÖ, Atalay FO, Dogan S. Effects of cross-linked high-molecular-weight hyaluronic acid on epidural fibrosis: experimental study. *J Neurosurg Spine.* 2015; 22 (1): 94–100. doi: 10.3171/2014.10.SPINE131147
13. Demirel E, Yildiz K, Çadirci K, Aygün H, Şenocak E, Gündoğdu B. Effect of platelet-rich fibrin on epidural fibrosis and comparison to ADCON® Gel and hyaluronic acid. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2018; 52 (6):469–474. doi: 10.1016/j.aott.2018.07.005
14. Anitua E, Nurden P, Prado R, Nurden AT, Padilla S. Autologous fibrin scaffolds: When platelet- and plasma-derived biomolecules meet fibrin. *Biomaterials.* 2019; 192: 440–460. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.11.029.

15. Carvalho M, Costa LM, Pereira JE, et al. The role of hybrid chitosan membranes on scarring process following lumbar surgery: post-laminectomy experimental model. *Neurol Res.* 2015; 37 (1):23–29. doi: 10.1179/1743132814Y.0000000414
16. Li X, Chen L, Lin H, et al. Efficacy of Poly (D, L-Lactic Acid-co-Glycolic acid) – Poly (Ethylene Glycol) – Poly (D, L-Lactic Acid-co-Glycolic Acid) Thermogel As a Barrier to Prevent Spinal Epidural Fibrosis in a Postlaminectomy Rat Model. *Clin Spine Surg.* 2017; 30 (3): E283–E290. doi:10.1097/BSD.0000000000000221
17. Lee JY, Stenzel W, Ebel H, Wedekind C, Ernestus RI, Klug N. Mitomycin C in preventing spinal epidural fibrosis in a laminectomy model in rats. *J Neurosurg.* 2004; 100 (1): 52–55. doi: 10.3171/spi.2004.100.1.0052
18. Wang BB, Xie H, Wu T, et al. Controlled-release mitomycin C-poly(lactic acid) film prevents epidural scar hyperplasia after laminectomy by inducing fibroblast autophagy and regulating the expression of miRNAs. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017; 21 (10): 2526–2537
19. Numthavaj P, Tanjararak K, Roongpuvapaht B, McEvoy M, Attia J, Thakkinstian A. Efficacy of Mitomycin C for postoperative endoscopic sinus surgery: a systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol.* 2013; 38 (3): 198–207. doi: 10.1111/coa.12114
20. Kasimcan MO, Bakar B, Aktaş S, Alhan A, Yilmaz M. Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: an experimental research. *Injury.* 2011;42 (8): 778–781. doi: 10.1016/j.injury.2010.2.017
21. Ismailoglu O, Kizilay Z, Cetin NK, Topcu A, Berber O. Effect of Curcumin on the Formation of Epidural Fibrosis in an Experimental Laminectomy Model in Rats. *Turk Neurosurg.* 2019; 29 (3): 440–444. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.24773-18.1
22. Kizilay Z, Cetin NK, Topcu A, et al. Effect of Etanercept on the Formation of Epidural Fibrosis in an Experimental Model. *Turk Neurosurg.* 2018; 28 (1): 111–117. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.18460-16.1
23. Sun Y, Zhao S, Li X, et al. Local application of rapamycin reduces epidural fibrosis after laminectomy via inhibiting fibroblast proliferation and prompting apoptosis. *J Orthop Surg Res.* 2016;11 (1): 58. doi: 10.1186/s13018-016-0391-0

REFERENCES

1. Samy Abdou M, Hardy RW Jr. Epidural fibrosis and the failed back surgery syndrome: history and physical findings. *Neurol Res.* 1999; 21 (1): 5–8. doi: 10.1080/01616412.1999.11758603
2. Masopust V, Häckel M, Netuka D, Bradác O, Rokyta R, Vrabec M. Postoperative epidural fibrosis. *Clin J Pain.* 2009; 25 (7): 600–606. doi: 10.1097/AJP.0b013e3181a5b665
3. Zhivotenko AP, Sorokovikov VA, Koshkareva ZV, Negreeva MB, Potapov VE, Gorbunov AV. Modern concepts of epidural fibrosis (literature review). *Acta Biomed Scient.* 2017; 2 (6): 27–33. doi: org/10.12737/article_5a0a7f9e412601.50968513 (in Russ)
4. Clancy C, Quinn A, Wilson F. The aetiologies of Failed Back Surgery Syndrome: A systematic review. *J Back Musculoskeletal Rehabil.* 2017; 30 (3): 395–402. doi: 10.3233/BMR-150318
5. Mohi Eldin MM, Abdel Razek NM. Epidural Fibrosis after Lumbar Disc Surgery Prevention and Outcome Evaluation. *Asian Spine Journal.* 2015; 9 (3): 370–385. doi: 10.4184/asj.2015.9.3.370
6. Baber Z, Erdek MA. Failed back surgery syndrome: current perspectives. *J Pain Res.* 2016; 7 (9): 979–987. doi: 10.2147/JPR.S92776
7. Liu J, Ni B, Zhu L, Yang J, Cao X, Zhou W. Mitomycin C-polyethylene glycol controlled-release film inhibits collagen

secretion and induces apoptosis of fibroblasts in the early wound of a postlaminectomy rat model. *Spine J.* 2010; 10 (5): 441–447. doi: 10.1016/j.spinee.2010.02.017

8. Amirdelfan K, Webster L, Poree L, Sukul V, McRoberts P. Treatment Options for Failed Back Surgery Syndrome Patients With Refractory Chronic Pain: An Evidence Based Approach. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2017; 42 (14): 41–52. doi: 10.1097/BRS.0000000000002217

9. Ozturk Y, Bozkurt I, Yaman ME, et al. Histopathologic Analysis of Tamoxifen on Epidural Fibrosis. *World Neurosurg.* 2018; 111: e941–e948. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.004

10. Häckel M, Masopust V, Bojar M, Ghaly Y, Horinek D. The epidural steroids in the prevention of epidural fibrosis: MRI and clinical findings. *Neuro Endocrinol Lett.* 2009; 30 (1): 51–55

11. Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol.* 2020; 18 (7): e3000411. doi: 10.1371/journal.pbio.3000411

12. Isik S, Taşkapılıoğlu MÖ, Atalay FO, Dogan S. Effects of cross-linked high-molecular-weight hyaluronic acid on epidural fibrosis: experimental study. *J Neurosurg Spine.* 2015; 22 (1): 94–100. doi: 10.3171/2014.10.SPINE131147

13. Demirel E, Yildiz K, Çadirci K, Aygün H, Şenocak E, Gündoğdu B. Effect of platelet-rich fibrin on epidural fibrosis and comparison to ADCON® Gel and hyaluronic acid. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2018; 52 (6):469–474. doi: 10.1016/j.aott.2018.07.005

14. Anitua E, Nurden P, Prado R, Nurden AT, Padilla S. Autologous fibrin scaffolds: When platelet- and plasma-derived biomolecules meet fibrin. *Biomaterials.* 2019; 192: 440–460. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.11.029.

15. Carvalho M, Costa LM, Pereira JE, et al. The role of hybrid chitosan membranes on scarring process following lumbar surgery: post-laminectomy experimental model. *Neurol Res.* 2015; 37 (1): 23–29. doi: 10.1179/1743132814Y.0000000414

16. Li X, Chen L, Lin H, et al. Efficacy of Poly (D, L-Lactic Acid-co-Glycolic acid) – Poly (Ethylene Glycol) – Poly (D, L-Lactic Acid-co-Glycolic Acid) Thermogel As a Barrier to Prevent Spinal Epidural Fibrosis in a Postlaminectomy Rat Model. *Clin Spine Surg.* 2017; 30 (3):E283–E290. doi:10.1097/BSD.0000000000000221

17. Lee JY, Stenzel W, Ebel H, Wedekind C, Ernestus RI, Klug N. Mitomycin C in preventing spinal epidural fibrosis in a laminectomy model in rats. *J Neurosurg.* 2004; 100 (1): 52–55. doi: 10.3171/spi.2004.100.1.0052

18. Wang BB, Xie H, Wu T, et al. Controlled-release mitomycin C-poly(lactic acid) film prevents epidural scar hyperplasia after laminectomy by inducing fibroblast autophagy and regulating the expression of miRNAs. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017; 21 (10): 2526–2537

19. Numthavaj P, Tanjararak K, Roongpuvapaht B, McEvoy M, Attia J, Thakkinstian A. Efficacy of Mitomycin C for postoperative endoscopic sinus surgery: a systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol.* 2013; 38 (3): 198–207. doi: 10.1111/coa.12114

20. Kasimcan MO, Bakar B, Aktaş S, Alhan A, Yilmaz M. Effectiveness of the biophysical barriers on the peridural fibrosis of a postlaminectomy rat model: an experimental research. *Injury.* 2011;42 (8):778–781. doi: 10.1016/j.injury.2010.12.017

21. Ismailoglu O, Kizilay Z, Cetin NK, Topcu A, Berber O. Effect of Curcumin on the Formation of Epidural Fibrosis in an Experimental Laminectomy Model in Rats. *Turk Neurosurg.* 2019; 29 (3): 440–444. doi: 10.5137/1019–5149.JTN.24773-18.1

22. Kizilay Z, Cetin NK, Topcu A, et al. Effect of Etanercept on the Formation of Epidural Fibrosis in an Experimental Model. *Turk Neurosurg.* 2018; 28 (1): 111–117. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.18460-16.1

23. Sun Y, Zhao S, Li X, et al. Local application of rapamycin reduces epidural fibrosis after laminectomy via inhibiting fibroblast proliferation and prompting apoptosis. *J Orthop Surg Res.* 2016;11 (1): 58. doi: 10.1186/s13018-016-0391-0

Сведения об авторах

Эрдынеев Константин Цыренович – заведующий отделением нейрохирургии Больницы скорой медицинской помощи им. В. В. Ангапова, Россия, 660023, г. Улан-Удэ, пр. Строителей, 1, e-mail: ekc1981@mail.ru

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор Иркутского научного центра хирургии и травматологии, Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, <https://orcid.org/0000-0002-9008-6383>, e-mail: vasorokovikov@mail.ru

Самбуев Дамбинима Нимацыренович – кандидат медицинских наук, главный врач Больницы скорой медицинской помощи им. В. В. Ангапова, Россия, 660023, г. Улан-Удэ, пр. Строителей, 1, e-mail: dambinima@mail.ru

Саганов Владислав Павлович – доктор медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии Бурятского государственного университета им. Д. Банзарова, Россия, 670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24А, e-mail: vlad-saganov@yandex.ru

Дамбаев Булат Бадмажапович – врач-нейрохирург отделения нейрохирургии Больницы скорой медицинской помощи им. В. В. Ангапова, Россия, 660023, г. Улан-Удэ, пр. Строителей, 1, e-mail: badmazhapovich@mail.ru

Ларионов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, заведующий отделением нейрохирургии Ивано-Матренинской детской клинической больницы, Россия, г. Иркутск, ул. Советская, 57, e-mail: imdkb@imdkb.ru

Гольдберг Олег Аронович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Иркутского научного центра хирургии и травматологии, Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, e-mail: iscst@mail.ru

Лепехова Светлана Александровна – доктор биологических наук, заведующий отделом медико-биологических исследований Иркутского научного центра СО РАН, Россия, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134, <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>, e-mail: lepekhova_sa@mail.ru

Степанов Иван Андреевич – ассистент кафедры общей хирургии и анестезиологии Иркутского государственного медицинского университета, научный сотрудник Иркутского научного центра хирургии и травматологии, Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>, e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

Information about the authors

Konstantin Ts. Erdynyev – M. D., Head, Department of Neurosurgery, Republican Clinical Hospital of Emergency Medicine named after V.V. Angapov; 660023, Ulan-Ude, Stroiteley Ave., 1, e-mail: ekc1981@mail.ru

Vladimir A. Sorokovikov – M. D., Ph. D., Professor, President, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology; Russia, 664003, Irkutsk, Bortsov Revolutsii Str., 1, <https://orcid.org/0000-0002-9008-6383>, e-mail: vasorokovikov@mail.ru

Dambinima N. Sambuev – M. D., Ph. D., President, Republican Clinical Hospital of Emergency Medicine named after V. V. Angapov, 660023, Ulan-Ude, Stroiteley Ave., 1, e-mail: dambinima@mail.ru

Vladislav P. Saganov – M. D., Ph. D., Assistant Professor, Department of Hospital Surgery, Buryat State University named after D. Banzarov, 670000, Ulan-Ude, Smolina Str., 24A, e-mail: vlad-saganov@yandex.ru

Bulat B. Dambaev – M. D., Neurosurgeon, Department of Neurosurgery, Republican Clinical Hospital of Emergency Medicine named after V. V. Angapov, 660023, Ulan-Ude, Stroiteley Ave., 1, e-mail: badmazhapovich@mail.ru

Sergey N. Lariyonov – M. D., Ph. D., Head of the Department of Neurosurgery, Ivano-Matreninskaya Children's Clinical Hospital, Russia, Irkutsk, Sovetskaya Str., 57, e-mail: imdkb@imdkb.ru

Oleg A. Goldberg – M. D., Ph. D., Leading Researcher, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Russia, 664003, Irkutsk, Bortsov Revolutsii Str., 1, e-mail: iscst@mail.ru

Svetlana A. Lepekhova – Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Biomedical Research, Irkutsk Scientific Center, SB RAS, Russia, 664003, Irkutsk, Lermontova Str., 134, <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>, e-mail: lepekhova_sa@mail.ru

Ivan A. Stepanov – M. D., Assistant, Department of General Surgery and Neurosurgery, Irkutsk State Medical University, Researcher, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Russia, 664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstaniya Str., 1, <https://orcid.org/0000-0001-9039-9147>, e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

Вклад авторов в написание статьи:

Эрдынеев К. Ц. – обзор литературы, поиск литературных источников, сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация данных, статистическая обработка материала, написание текста.

Сороковиков В. А. – разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования, научное редактирование, утверждение рукописи для публикации.

Самбуев Д. Н. – поиск литературных источников, анализ и интерпретация данных, написание текста.

Саганов В. П. – сбор и обработка клинического материала, поиск литературных источников.

Дамбаев Б. Б. – статистическая обработка материала.

Ларионов С. Н. – научное редактирование;

Гольдберг О. А. – разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования;

Лепехова С. А. – научное редактирование, утверждение рукописи для публикации;

Степанов И. А. – разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования, научное редактирование.