

Оценка влияния электрического поля электрета на остеорепарацию и активность воспаления в процессе хирургического лечения моделированного туберкулезного остита по морфологическим и биохимическим критериям

М.С. Сердобинцев¹, Т.И. Виноградова¹, М.Е. Дьякова¹, Д.С. Эсмедляева¹,
Н.М. Блюм², М.З. Догонадзе¹, А.В. Баранов¹, А.С. Кафтырев¹, И.Г. Роднова¹,
А.Ю. Черкасов¹, Е.Г. Соколович^{1,3}, П.К. Яблонский^{1,3}

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии

² ООО «Межрегиональный лабораторный центр», Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский государственный университет

Influence of the electret electric field on osteoreparation and inflammation in surgical treatment of simulated tuberculous osteitis estimated by morphological and biochemical criteria

M. Serdobintsev¹, T. Vinogradova¹, M. Diakova¹, D. Esmedliaeva¹,
N. Blum², M. Dogonadze¹, A. Baranov¹, A. Kaftyrev¹,
I. Rodnova¹, A. Cherkasov¹, E. Sokolovich^{1,3}, P. Yablonskiy^{1,3}

¹ St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology

² Interregional laboratory Center LLC, St. Petersburg

³ St. Petersburg State University

© Коллектив авторов, 2020 г.

Резюме

Введение. В ортопедической хирургии в настоящее время проводится поиск факторов и условий, влияющих на течение деструктивных процессов костной ткани и на эффективность восстановительной хирургии. Имплантация электретов на основе анодного оксида тантала с отрицательным зарядом внешней поверхности (далее «электрет»), индуцирующих квазистатическое электрическое поле, в хирургическом лечении ранних стадий дегенеративных заболеваний суставов сопровождается выраженным противоболевым эффектом и значительным повышением качества жизни

больных. **Цель исследования:** выявить особенности остеогенеза и регресса активности специфического воспаления при хирургическом лечении экспериментального туберкулезного остита в условиях воздействия электрического поля электрета. **Материалы и методы.** Исследовали процессы остеорепарации и динамику активности специфического воспаления костной ткани у 30 кроликов, которым в дистальном метадиафизе бедренной кости моделировали туберкулезный остит. 3 животных были интактными (1-я группа), 6 кроликов после моделирования туберкулезного остита не получали лечения (2-я группа),

9 кроликов (3-я группа) подверглись некрэктомии и пластике образовавшегося дефекта костным ауто-трансплантатом, 9 кроликам (4-я группа) выполнена некрэктомия и введение электрета, индуцирующего квазистатическое электрическое поле, и 6 животным (5-я группа) осуществлены некрэктомия, аутокостная пластика дефекта и перифокальная имплантация электрета. Животные 3, 4 и 5-й групп получали противотуберкулезное лечение. Сроки наблюдения — 1, 2 и 4 мес после некрэктомии и пластики дефекта. Процессы регенерации кости и регресс воспаления оценивали морфологическими и биохимическими методами (ферменты пуринергической системы — активность общей аденозиндезаминазы и ее изоферментов, активность эластазы, уровень реактантов острой фазы: церулоплазмина, гаптоглобина, α_1 -кислого гликопротеина и альбумина). **Результаты исследования.** Прослежена эволюция туберкулезного воспаления костной ткани в контрольные сроки у животных, которым выполнено моделирование туберкулезного остита. При оценке репаративных процессов костной ткани и регресса активности воспалительных изменений установлено, что только сочетание противотуберкулезного лечения, выполненной некрэктомии, пластики постнекрэктомического дефекта ауто-трансплантатом и перифокальной имплантации электрета позволило уже к 2 мес наблюдений достичь полного регресса активности туберкулезного процесса в кости и замещения дефекта кости зрелой трабекулярной тканью. **Заключение.** Электрическое поле электрета на основе анодного оксида тантала с отрицательным зарядом внешней поверхности ускоряет процессы остеорепарации и снижает активность туберкулезного воспаления при хирургическом лечении экспериментального туберкулезного остита.

Ключевые слова: дефект костной ткани; остеорепарация; активность туберкулезного воспаления; квазистатическое электрическое поле; электрет на основе анодного оксида тантала

Summary

Introduction. Recent trends in orthopedic surgery target factors and conditions that affect the destructive processes in bone tissue and the effectiveness of reconstructive surgery. Electrets based on anodic tantalum oxide with

negative external surface charge (hereinafter, “electret”) create a quasi-static long-term electric field in the surrounding space. Their implantation in the surgical treatment of early stages of degenerative joint diseases is accompanied by pronounced analgesic effect and significant increase in the quality of life of patients. **Objective.** To identify the features of osteogenesis and regression of specific inflammation in the surgical treatment of experimental tuberculous osteitis in a constant electric field created by electret. **Materials and methods.** We studied the processes of osteoreparation and dynamics of the bone tissue specific inflammation activity in 30 rabbits with simulated tuberculous osteitis of the distal (metadiaphysis) femur. 3 animals were intact (group 1), 6 rabbits did not receive any therapy after tuberculous osteitis simulation (group 2), 9 rabbits (group 3) underwent necrectomy and osteoplasty with autograft, 9 rabbits (group 4) underwent necrectomy and electret implantation (with further generation of quasi-static electric field), and 6 animals (group 5) underwent necrectomy, osteoplasty with autograft and perifocal electret implantation. Animals in groups 3, 4 and 5 received antituberculous therapy. The observation period was 1, 2 and 4 months after the grafting procedure. Bone regeneration and inflammation regression were assessed with morphological and biochemical methods (enzymes of the purinergic system — activity of total adenosine deaminase and its isoenzymes, elastase activity, level of acute phase reactants: ceruloplasmin, haptoglobin, α_1 -acid glycoprotein, and albumin). **Results.** The evolution of tuberculous inflammation of bone tissue was observed for the control periods in animals with simulated tuberculous osteitis. The analysis of bone tissue reparation and inflammation activity regression showed that only a combination of antituberculosis therapy, necrectomy, osteoplasty with autograft and electret perifocal implantation allowed in 2 months to achieve complete regression of active tuberculosis and replacement of defect with mature trabecular bone. **Conclusion.** The electret electric field based on anodic tantalum oxide with negative external surface charge accelerates the processes of osteoreparation and reduces the activity of tuberculous inflammation in the surgical treatment of experimental tuberculous osteitis.

Keywords: bone defect; osteoreparation; activity of tuberculous inflammation, electric field, electret based on anodic tantalum oxide

Введение

Повышение эффективности хирургического лечения костно-суставного туберкулеза является одной из приоритетных проблем в ортопедии и фтизи-

атрии, так как специфические поражения скелета в настоящее время сопровождаются высоким уровнем первичной инвалидизации заболевших и резким ухудшением их качества жизни. Включение хирургических методик [1–3], реконструкция и пластика

костных дефектов [4–6] в процессе комплексного лечения специфического поражения скелета наряду с периоперационной противотуберкулезной терапией являются основными факторами, предопределяющими высокую эффективность лечения. В современном понимании развития реконструктивной хирургии костного туберкулеза важное место отводится не только поиску новых остеозамещающих материалов, способных заменить традиционно применяемый аутокостный материал, но и изучению новых условий, в том числе и физических, способных целенаправленно изменять естественные регенераторные процессы в поврежденной костной ткани. В последние годы, по данным литературы, интенсивно изучаются проблема биоэлектrogenеза костной ткани, влияние электрического поля электретов на снижение болевого синдрома и предотвращение нарастания дегенеративно-дистрофических процессов в костях у больных в процессе хирургического лечения остеоартрита [7, 8]. В научной литературе отсутствуют данные о влиянии меняющихся биофизических условий на остеогенетическую потенцию регенерирующей кости в условиях туберкулезного воспаления. В последние годы все большее значение придается пуринергической регуляции костного метаболизма. Аденозин, высвобождаемый локально, опосредует свои физиологические и фармакологические действия через взаимодействие с G-белковыми рецепторами, которые участвуют в регуляции дифференцировки и функции остеокластов, а также в дифференцировке остеобластов и формировании костной ткани. Все четыре рецептора аденозина (A_1 , A_{2A} , A_{2B} , A_3) экспрессируются клетками костного мозга, остеокластами и остеобластами [9, 10]. С учетом возрастающего интереса исследователей к использованию электрического поля электретов в хирургической ортопедии весьма актуальной остается проблема изучения электробиогенетических механизмов репаративного остеогенеза в зоне пластики костного туберкулезного очага после его некрэктомии и оценки напряженности специфического воспаления костной ткани.

Цель

Выявить особенности остеогенеза и регресса активности специфического воспаления при хирургическом лечении экспериментального туберкулезного остита в условиях воздействия электрического поля электрета на основе анодного оксида тантала с отрицательным зарядом внешней поверхности.

Материалы и методы исследования

В исследование включены результаты динамического наблюдения за 33 кроликами породы шин-

шила (поступление животных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» ФГБУ «Национальный центр «Курчатовский институт»), которые содержались в условиях сертифицированного вивария на базе ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами». На проведение настоящего исследования получено разрешение Независимого этического комитета ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России. Туберкулезный остит моделировали 30 кроликам по методике, разработанной в ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России [11] путем инокуляции в дистальный метаэпифиз бедренной кости стандартизированной культуры *M. tuberculosis* H37Rv (1×10^6 КОЕ) из коллекции ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России. Анестезиологическое пособие включало: препарат для анестезии золетил (золозепам + тилетамин; Вирбак S.A., Франция) в дозе 25 мг/кг массы тела (внутривенно в краевую ушную вену); миорелаксант рометар (*Xylazinum*, АО «Биовета», Чехия) в виде 2% раствора внутримышечно в объеме 1,0–1,5 мл. В процессе выполнения исследования, после моделирования очага специфического воспаления и его рентгенологической визуализации (через 3 нед после заражения) все животные были распределены на группы в зависимости от варианта предпринятого хирургического лечения: 1-я группа — интактные животные ($n=3$), которым не моделировали туберкулезный остит, они не подвергались операции и служили в качестве контроля; 2-я группа — контроль заражения ($n=6$) — кролики с моделированным туберкулезным оститом, не получавшие противотуберкулезную терапию (ПТТ), которым не проводилась некрэктомия и пластика операционного дефекта; 3-я группа — модельные животные ($n=9$), которым после развития специфического деструктивного очага назначалась ПТТ, выполнялась некрэктомия полости деструкции, операционный дефект замещался аутокостным трансплантатом; 4-я группа — животные ($n=9$) с моделированным туберкулезным оститом, которым на фоне проведения ПТТ и выполнения некрэктомии деструктивного очага в перифокальную область вводился электретный имплантат; 5-я группа — кролики ($n=6$), которым после моделирования туберкулезного остита, назначения ПТТ и выполнения некрэктомии деструктивной полости проводилось ее замещение аутокостным трансплантатом, а в периимплацационную зону устанавливался электретный имплантат. Животным 3, 4 и 5-й групп назначалась этиотропная

терапия (изониазид — 10 мг/кг, подкожно; этамбутол и пиперазинид в дозах 20 мг/кг внутривенно). Через 2–3 нед лечения выполнялась некрэктомия очага специфического воспаления и пластика операционного дефекта. В работе использовали электретный имплантат производства ООО «Медэл» (Россия), индуцирующий квазистатическое электрическое поле [12]. Электретный имплантат представляет собой танталовый стержень, на поверхности которого сформирован анодный оксид толщиной 0,3 мкм с функционально необходимым распределением плотности отрицательного заряда по поверхности величиной до стерилизации 0,048–0,056 Кл./м² в максимуме на конце стержня, что соответствует разности потенциалов между внешней поверхностью оксида и танталом 60–70 В.

Методы исследования. Оценка биохимических показателей воспалительного ответа. Забор крови осуществляли из краевой вены уха в дебюте исследования (до заражения), через 2 и 4 мес после моделирования туберкулезного остита. В сыворотке крови исследовали: ферменты пуринергической системы — активность общей аденозиндезаминазы (АДА) и ее изоферментов (экто-АДА-1 и экто-АДА-2); а также активность эластазы, уровень реактантов острой фазы (РОФ) — церулоплазмина (ЦП), гаптоглобина (ГП), α_1 -кислого гликопротеина (АГП), альбумина. Активность АДА и ее изоферментов определяли методом G. Giusti (1974) [13], эластазы — методом L. Visser и E.R. Blout (1972) [14], уровень церулоплазмина — методом Равина [15] на спектрофотометре PV 1251С (Беларусь). Гаптоглобин определяли методом ИФА [тест-система Rabbit Haptoglobin (HP) ELISA] согласно протоколу производителя (MyBioSource, США), α_1 -кислый гликопротеин — методом ИФА [тест-система Rabbit Alpha-1-Acid Glycoprotein (ORM1) ELISA] согласно протоколу производителя (Cusabio, Китай) на восьмиканальном фотометре для микропланшетов EL808IU (США), альбумин — реактивами «Beckman Coulter» на биохимическом анализаторе «Synchron CX5 PRO» (Beckman Coulter, США).

Для получения материала для морфологических исследований модельных животных эвтаназировали путем введения в латеральную вену уха препарата для анестезии золетила в дозе, в 5 раз превышающей терапевтическую. Патоморфологическое исследование включало гистологическое изучение микропрепаратов [16]. Фрагмент кости фиксировали в 10% формалине, с последующей декальцинацией в растворе Shandon TBD-2TM, заливкой в парафин и окрашиванием гематоксилином и эозином, а также азур II-эозином. Детекция микобактерии туберкулеза (МБТ) проводилась окраской по Цилю–Нельсену. Исследование препаратов осуществлялось при увеличении 150, 300,

600 и 1000 с помощью эргономичного микроскопа Olympus BX 45, снабженного программным обеспечением Olympus DP-Soft.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoftInc, USA). В случае отклонения от нормального распределения (критерий Шапиро–Уилка) рассчитывали медиану (Me), первый и третий квартили (Q1–Q3). Оценивали достоверность различий метрических величин (критерий Вилкоксона), их корреляционную зависимость между собой (критерий Спирмена) и с количественными признаками (критерий Краскела–Уоллиса).

Результаты исследования

Гистологическое исследование показало, что во 2-й группе (контроль заражения) через 1 мес выявлялись все морфологические признаки туберкулезного воспаления: крупные специфические гранулемы с очагами свежего некроза, детрит, макрофагально-эпителиоидно-клеточные инфильтраты, лимфоцитарная инфильтрация, признаки специфического периостита с вовлечением в процесс тканей сустава. В ряде случаев в эпифизарной пластинке определялась активная зона роста с дистрофическими изменениями (рис. 1).

Через 2 мес в этой группе наблюдали дальнейшее прогрессирование специфических изменений: крупные очаги казеозного некроза с обилием детрита, ограниченные валом из эпителиоидных клеток и лимфоцитов, тонкая фиброзная капсула, вокруг очагов выявлялась зона формирующегося фиброза, жировая атрофия костного мозга. В области сустава — единичные гранулемы продуктивного типа.

В 3-й группе (моделирование остита, некрэктомия, ПТТ, аутокостная пластика операционного дефекта) через 1 мес после операции выявлялись гранулемы с многоядерными клетками типа инородных тел, единичные лимфоцитарные и макрофагальные инфильтраты, отмечались остеолит и резорбция аутокостного трансплантата с реактивными изменениями остеобластов, ремодуляция, остеогенез собственной костной матрицы. Костный мозг с выраженным фиброзированием стромы, определялись преимущественно жировые клетки. Через 2 мес у животных этой группы выявляли значительное снижение выраженности специфических изменений костной ткани: единичные макрофагально-гистиоцитарные инфильтраты, эпителиоидно-клеточные формации, некрозы без капсул, незначительная лимфоцитарная инфильтрация, перестройка и фрагментация аутокости. Отмечались пролиферативные процессы в костной пластинке и в тканях аутокостного

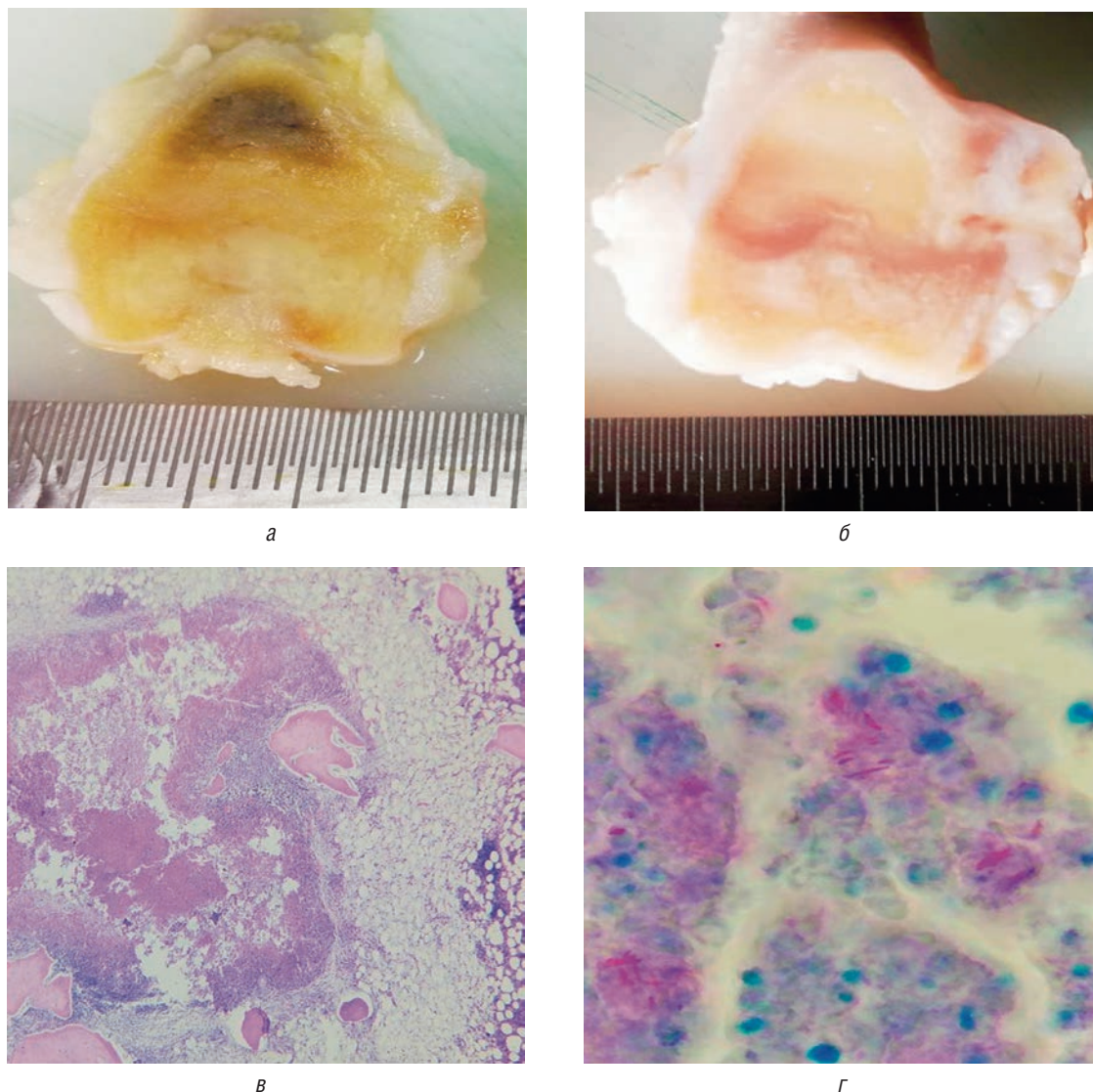


Рис. 1. Фотографии дистального метаэпифиза бедренной кости кролика и микропрепараты гистологических срезов костной ткани кроликов 2-й группы (контроль заражения). Развитие специфического воспаления с формированием обширных инфильтратов с участками казеозного некроза в эпифизарной и метаэпифизарной зоне с вовлечением в процесс метаэпифизарной пластинки на 1 мес (а) и 2 мес (б), с начальными признаками отграничения и формированием невыраженного эпителиоидно-клеточного вала, гипопластической реакцией окружающего костного мозга (в, ув. 100), обилием микобактерий туберкулеза (г, ув. 1000)

трансплантата, выраженная фибротизация костного мозга в постнекрэктомическом дефекте. В большинстве наблюдений в зоне некрэктомии определялись трабекулярные разрастания зрелого вида, эпифизарная пластинка отсутствовала — на ее месте зрелая трабекулярная сеть, активация мегакариоцитов. Через 4 мес данных, свидетельствующих о специфическом воспалении, в исследуемых образцах не получено, имелся единичный фокус в околосуставном сегменте эпифиза с явлениями полнокровия сосудов, микрофокуса лимфоцитарной инфильтрации и с активацией остеокластов вокруг микросеквестров. Определялась зрелая трабекулярная сеть с высокой активностью остеобластов эпифизарной зоны роста кости. В остальных

отделах эпифиза и диафиза наблюдались истонченные костные балки и замещенный жировой костный мозг; суставная пластинка активная, зоны роста, реактивный синовит. В эпифизе определялись ремоделированные костные балки без признаков воспалительной активности, костный мозг смешанного строения (рис. 2).

В 4-й группе (моделирование остита, некрэктомия, ПТТ, имплантация электрета в перифокальную область) через 1 мес после операции определялось умеренное специфическое воспаление, преимущественно продуктивного типа, вблизи электрета; выраженное полнокровие сосудов; некрозы свежие — детрит; обилие зрелых грануляций; жировая и мышечная ткани в полости кости с явлениями аутолиза; выявлялась

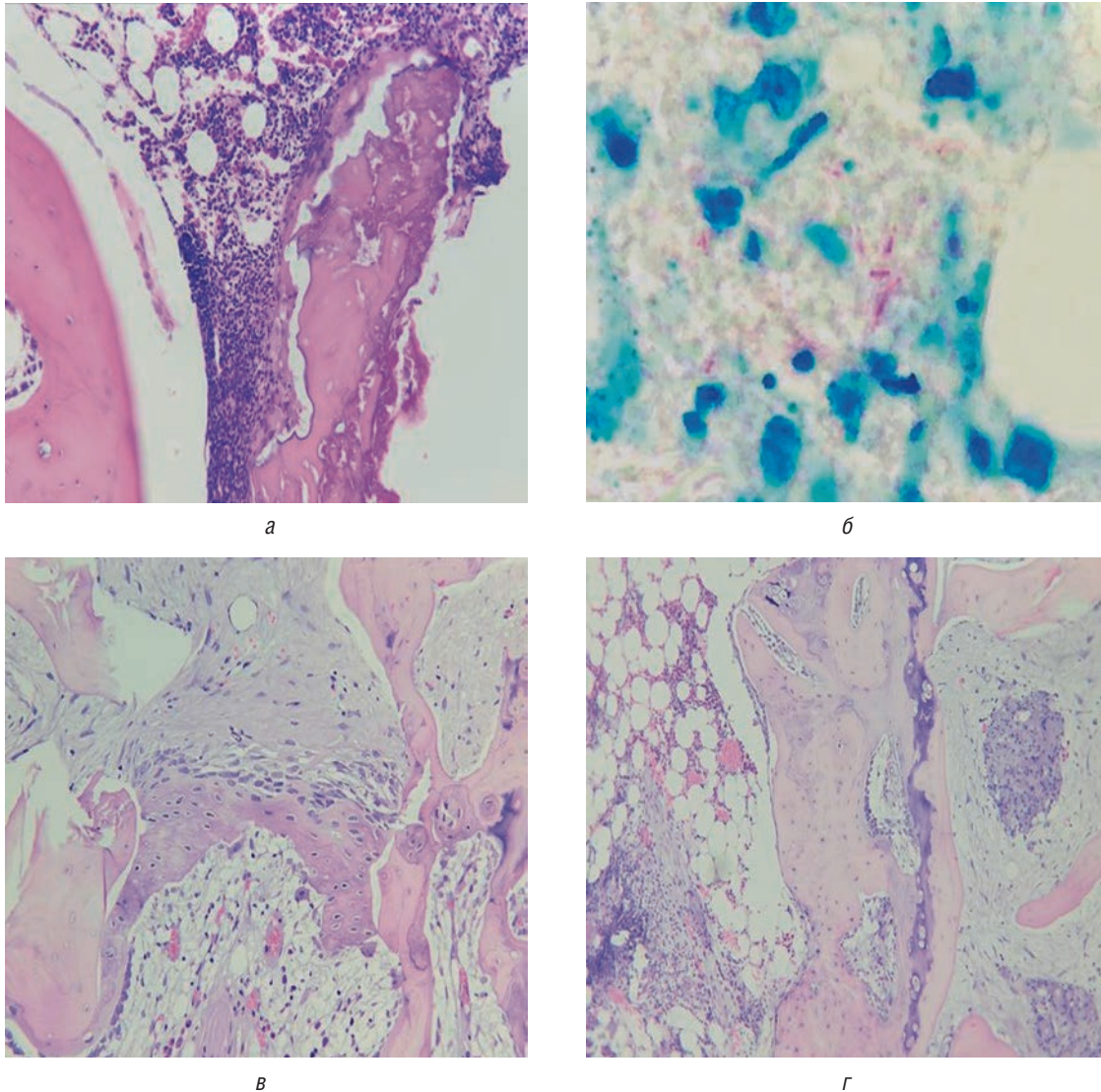
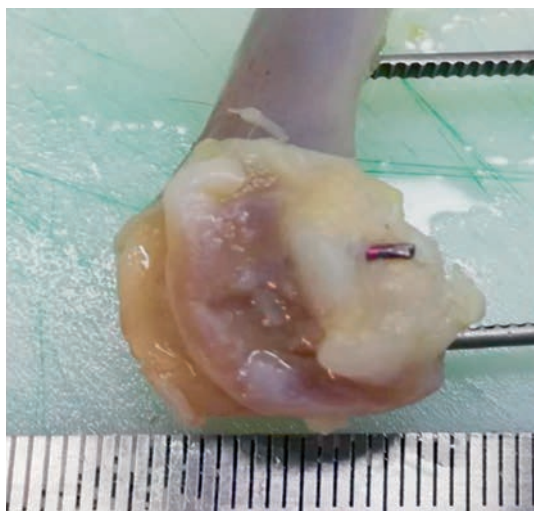


Рис. 2. Микрофотографии гистологических препаратов костной ткани кроликов 3-й группы. На протяжении 1–2 мес лечения сохранялось незначительное затухающее специфическое воспаление, в некротизированных массах обнаруживались микобактерии туберкулеза (*б*, ув. 1000), фрагменты аутокости с явлениями частичной резорбции (*а*, ув. 200) и активной ремодуляции (*в*, ув. 200) с замещением межбалочных пространств зоны дефекта зрелой соединительной тканью и элементами костного мозга (*г*, ув. 100) к 4-му месяцу

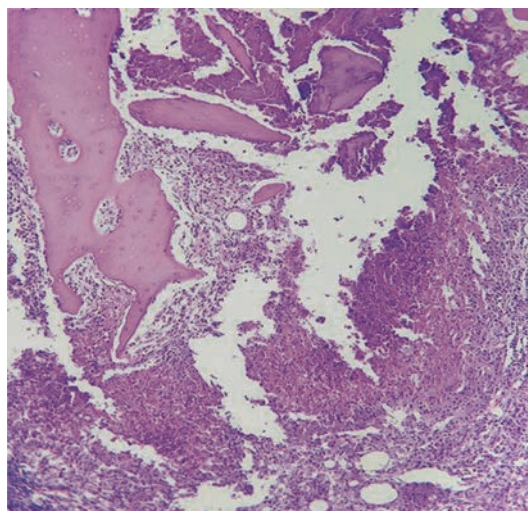
тонкая фиброзная капсула вокруг электрета; разрастания трабекул, в их полостях инфильтраты и грануляции без распада. Через 2 мес у животных этой группы отмечалось значительное снижение активности туберкулезных изменений костной ткани: в метаэпифизарной зоне мелкие единичные очаги некроза с присутствием единичных МБТ, окруженные валом из макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов, присутствовали единичные клетки Лангханса, грануляции. Зона кортикальной деструкции с активным трабекулярным замещением. Трабекулярная сеть эпифиза зрелого вида. Эпифизарная пластинка фрагментирована без активности. Ячейки заполнены желтым костным мозгом, в диафизе незначительно присутствует красный костный мозг. Инфильтраты отсутствуют. Через 4 мес

определялся дальнейший регресс специфических изменений с формированием муфты и грануляций по ходу стержня электрета, рыхлой соединительной ткани, секвестров, единичных субмиллиарных и миллиарных эпителиоидно-клеточных гранул, окруженных лимфоцитами. Трабекулярная сеть эпифиза зрелого вида (рис. 3).

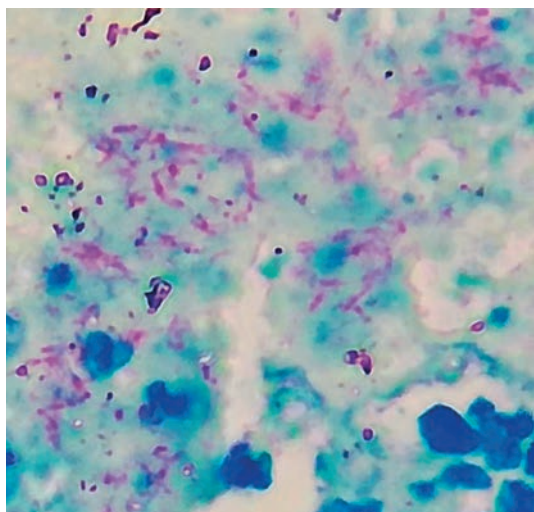
В 5-й группе (моделирование остита, некрэктомия, ПТТ, аутокостная пластика костного дефекта, имплантация электрета) через 1 мес после операции выявлялись признаки туберкулезного воспаления: очаги казеозного некроза с кальцинацией и отграничительным эпителиоидно-клеточным с гигантскими многоядерными клетками и лимфоплазмоцитарным валом, формирующейся капсулой, грануляциями и фиброзом по



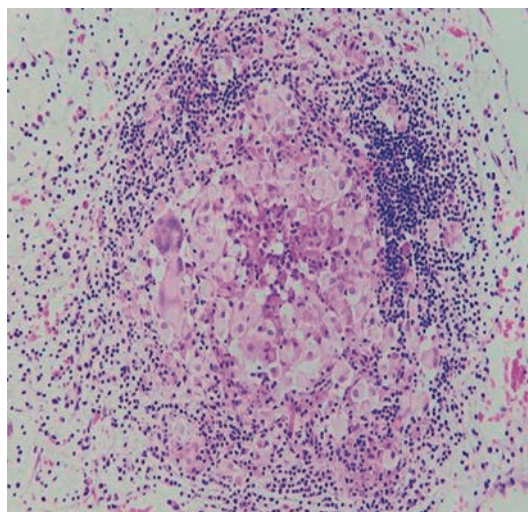
а



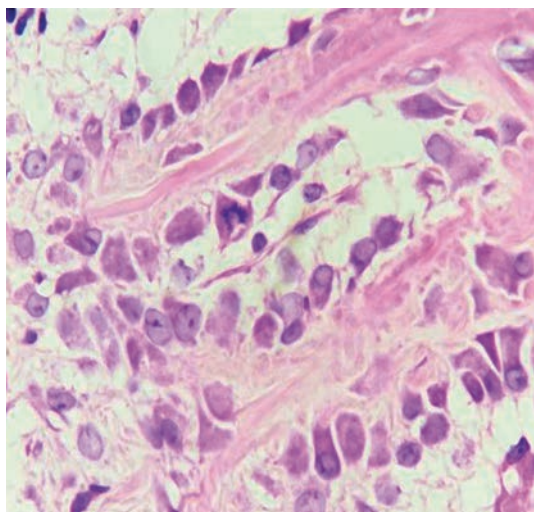
б



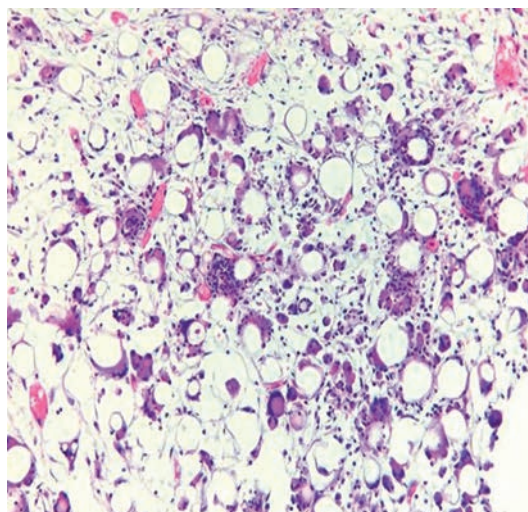
в



г



д



е

Рис. 3. Фотография дистального отдела бедренной кости кролика (а) и микрофотографии гистологических препаратов костной ткани кроликов 4-й группы. Выявлялись обширные участки специфического воспаления с некротизацией на 1-м месяце с обилием МБТ (б, в), единичные некротизирующиеся специфические гранулемы на 2-м месяце (г), активная ремодуляция и рост вновь образованной кости в зоне расположения стержня электрета (д), повышенная фиброцизация окружающих тканей (е)

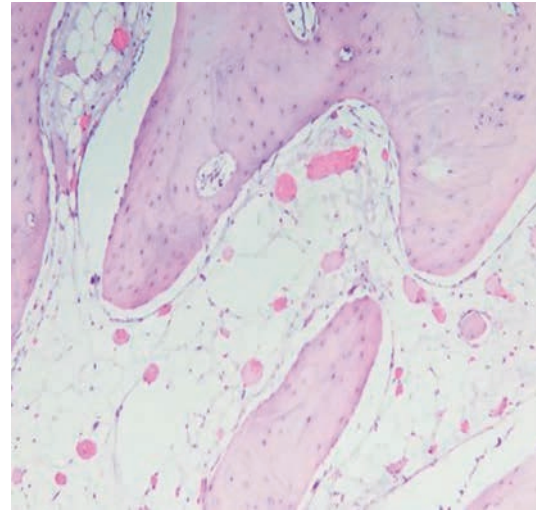
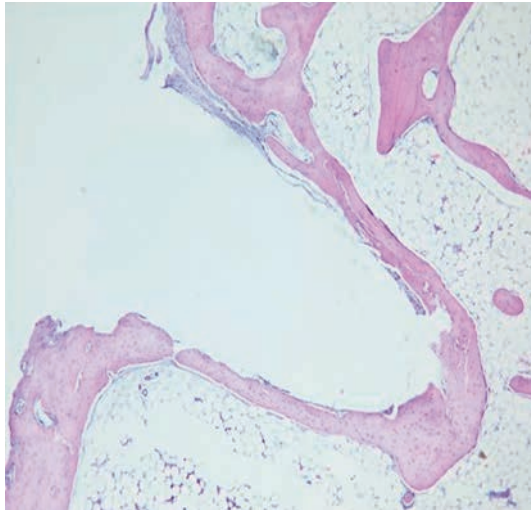


Рис. 4. Микрофотографии гистологических препаратов костной ткани кроликов 5-й группы. На сроке 2 мес отсутствовали признаки активной туберкулезной инфекции, канал электрета без признаков воспаления, на месте дефекта костные трабекулы с модуляцией аутокости, межбалочные пространства были заполнены соединительной и жировой тканями, остаточными элементами грануляционной ткани, присутствовали разрозненно островки красного костного мозга

периферии, МБТ — единичные мелкие, разрозненные. Определялись участки остеонидной ткани, единичные гранулы типа инородных тел. Через 2 мес у животных этой группы данные за специфические изменения отсутствовали. В зоне эпифиза выявлялась зрелая костная ткань с разрастаниями и пролиферацией. В зоне канала электрета определялись незначительные деструктивные изменения без воспалительной реакции, в окружающем костном мозге — незначительный отек. В области аутотрансплантации были видны единичные мелкие эпителиоидно-гигантоклеточные гранулы типа инородных тел, остаточные грануляции, рыхлая соединительная ткань, признаки приживления аутокости и ее вращания (рис. 4).

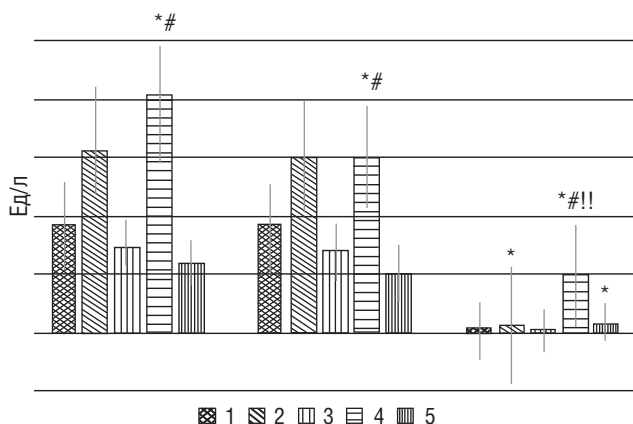


Рис. 5. Активность аденозиндезаминазы в исследуемых группах через 2 мес после моделирования туберкулезного остита.

* Различия значимы по сравнению с группой 1; # различия значимы между 4-й и 3-й группами; !! различия значимы между 4-й и 5-й группами

Биохимические исследования. Активность ферментов пуринергической системы — общей АДА, экто-АДА-1, экто-АДА-2 во 2–5-й группах были сопоставлены с аналогичными показателями в 1-й группе. Через 2 мес после хирургического лечения туберкулезного остита активность общей АДА, экто-АДА-1 во 2, 3 и 5-й группах и активность экто-АДА-2 в 3-й группе значимо не отличалась от первой группы (рис. 5). При этом во 2-й группе имелась только тенденция к росту общей АДА и экто-АДА-1 из-за малочисленности группы. Напротив, в 4-й группе активность общей АДА, экто-АДА-1 и экто-АДА-2 была выше ($p=0,01$; $0,048$ и $0,001$ соответственно), чем в 1-й группе, а во 2-й и 5-й группах — выше активность экто-АДА-2 ($p=0,026$

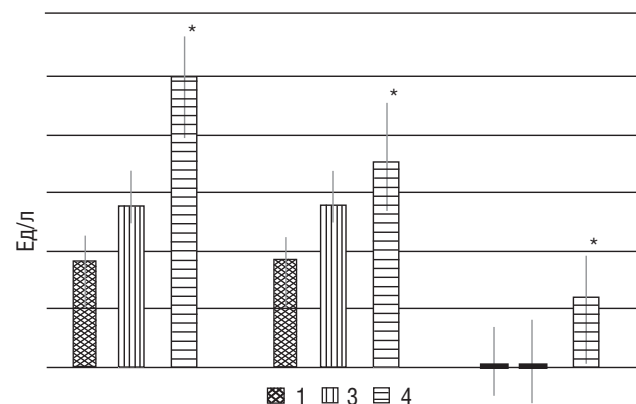


Рис. 6. Активность аденозиндезаминазы в исследуемых группах через 4 мес после хирургического лечения туберкулезного остита.

* Различия значимы по сравнению с 1-й группой

и 0,02 соответственно). При этом в 4-й группе активность общей АДА, экто-АДА-1 и экто-АДА-2 ($p=0,03$ для всех) была выше, чем в 3-й группе, и активность экто-АДА-2 — выше, чем в 5-й группе ($p=0,049$).

Через 4 мес после операции активность общей АДА, экто-АДА-1 в 3-й группе также значимо не отличалась от показателей в 1-й группе (рис. 6). При этом в этой группе активность общей АДА и экто-АДА-1 возросла ($p=0,03$ для всех) по сравнению с 2 мес после операции. Напротив, в 4-й группе активность общей АДА, экто-АДА-1 и экто-АДА-2 также была выше ($p=0,03$; 0,048 и 0,003 соответственно), чем в 1-й группе.

Представленные на рис. 5 и 6 данные позволяют считать, что активность ферментов, дезаминирующих аденозин, через 2 и 4 мес после операции в обследованных группах различна. Через 2 мес активность экто-АДА-1 (дезаминирующего, главным образом, внутриклеточный аденозин) значимо повышена только в 4-й группе. Повышенная активность экто-АДА-2 (ответственного за необратимое дезаминирование внеклеточного аденозина) отмечается во 2, 4 и 5-й группах. Через 4 мес повышенная активность экто-АДА-1 и экто-АДА-2 отмечалась только в 4-й группе. Таким образом, мы можем заключить, что в 4-й группе выявлена наибольшая концентрация аденозина через 2 и 4 мес после хирургического лечения моделированного туберкулезного остита.

Активность одного из основных маркеров воспаления — эластазы через 2 мес наблюдений во 2, 3 и 4-й группах значимо не отличалась от активности в 1-й группе (421,6; 289,8 и 297,0 МЕ против 262,6 МЕ). Напротив, в 5-й группе активность эластазы была выше ($p=0,04$), чем в 1-й группе. Через 4 мес активность эластазы в 3-й и 4-й группах определялась в пределах диапазона 1-й группы (347,7 и 297,0 МЕ против 262,6 МЕ).

Результаты исследования уровней РОФ представлены в табл. 1. Через 2 мес наблюдения во всех анализируемых группах уровень ЦП, а во 2-й и 5-й группах и уровни других исследуемых РОФ (ГП, АГП и альбумина) значимо не отличались от таковых в 1-й группе. Уровень ГП был снижен в 3-й и 4-й группах ($p=0,008$ и 0,01) по сравнению с 1-й группой. Изменения уровня АГП в этих группах были разнонаправленными — снижены в 3-й группе ($p=0,01$) и имели тенденцию к росту ($p>0,05$) в 4-й группе. При этом данный РОФ в 4-й группе был выше ($p=0,03$), чем в 3-й группе. Уровень альбумина в 3-й группе определялся ниже ($p=0,001$), чем в 1-й группе, а в 4-й группе, значимо не отличаясь от 1-й группы, был выше, чем в 3-й группе ($p=0,047$). Через 4 мес в 3-й группе уровни ГП ($p=0,03$) и АГП нормализовались и не отличались от 1-й группы, уровень альбумина хоть и повысился ($p=0,04$), но достиг диапазона ($p=0,02$) 1-й группы. В 4-й группе уровень ГП несколько повысился и стал определяться в пределах диапазона 1-й группы, напротив, уровень АГП понизился ($p=0,049$) и стал ниже, чем в 1-й группе ($p=0,0036$) и в 3-й группе ($p=0,048$).

Таким образом, через 2 мес после хирургического лечения моделированного туберкулезного остита во 2-й группе была повышена только активность экто-АДА-2; в 3-й группе отмечалось снижение уровней РОФ (ГП, АГП и альбумина); в 4-й группе наряду с ростом активности общей АДА, экто-АДА-1, экто-АДА-2 наблюдалось снижение уровня ГП; в 5-й группе отмечался рост активности экто-АДА-2 и эластазы. Через 4 мес наблюдений в 3-й группе был снижен только уровень альбумина; в 4-й группе наряду с ростом активности общей АДА, экто-АДА-1, экто-АДА-2 наблюдалось снижение уровня АГП.

Таблица 1

Уровень реактантов острой фазы в анализируемых группах

Показатель	Группы						
	1	2	3		4		5
			2 мес	4 мес	2 мес	4 мес	2 мес
ГП, мг/мл	116,0 (98,8–140,3)	126,7 (111,7–141,7)	82,4* (73,7–93,0)	110,2• (110,2–111,7)	91,6* (55,7–91,6)	121,7 (113,1–130,1)	80,2 (71,6–273,4)
АГП, нг/мл	137,0 (115,0–170,0)	117,7 (27,0–208,3)	61,3* (26,2–118,0)	139,4 (119,0–200,0)	173,6# (156,3–225,8)	80,9*# (50,0–115,6)	120,0 (110,0–139,6)
Церулоплазмин, г/л	0,41 (0,24–0,43)	0,26 (0,25–0,27)	0,36 (0,34–0,37)	0,36 (0,28–0,55)	0,52 (0,31–0,54)	0,31 (0,29–0,34)	0,41 (0,25–0,51)
Альбумин, г/л	51,0 (47,0–52,0)	50,5 (47,0–54,0)	44,0* (43,5–44,5)	46,0*• (45,0–46,0)	47,0# (45,0–50,0)	47,0 (46,0–48,0)	48,0 (43,0–49,0)

* Различия значимы по сравнению с 1-й группой; # — различия значимы между 4-й и 3-й группами; • различия значимы внутри группы между сроками наблюдения. ГП — гаптоглобин; АГП — α -кислый гликопротеин.

Обсуждение результатов

При лечении больных с воспалительными, в том числе и инфекционными, деструкциями костной ткани хирург-ортопед решает две главные концептуальные задачи. Решение первой задачи направлено на восстановление анатомической структуры кости в месте образовавшегося дефекта и связанное с этим восстановление нарушенных функциональных возможностей пораженного отдела скелета. Вторая задача — подавление активности системной и локальной воспалительной реакции, которое достигается не только назначением соответствующей антибактериальной терапии, но и путем создания иных соответствующих условий в течение заболевания, препятствующих манифестации воспаления. В данном исследовании к таким факторам впервые отнесено квазистатическое электрическое поле электрета на основе анодного оксида тантала, имплантированного в перифокальную область. Оценку его влияния на остеорепаративные процессы и регресс напряженности воспаления костной ткани в морфологическом аспекте мы проводили, сравнивая, прежде всего, результаты исследования, полученные у кроликов 3-й группы, у которых на фоне продолжающейся противотуберкулезной терапии в процессе хирургического лечения туберкулезного остита проводилось аутокостное замещение операционного дефекта, с результатами в 5-й группе, животным которой аутопластика дефекта дополнялась имплантацией электрета с индукцией квазистатического электрического поля. Если через 1 мес наблюдений у животных обеих групп наблюдались сходные процессы развития специфического процесса в костной ткани и начальные остеорепаративные признаки, то уже ко 2-му месяцу наблюдений у животных 5-й группы не только отсутствовали явления специфического воспаления, но и определялась зрелая трабекулярная сеть в области постнекрэктомического дефекта, что было достигнуто у кроликов 3-й группы только к 4-му месяцу наблюдений. Этот факт позволяет заключить, что электрическое поле электрета при равных условиях позволяет в более ранние сроки купировать активность специфического воспаления в костной ткани и способствует более быстрому течению остеорепарации. В процессе выполнения данного исследования изучалась и роль изолированного воздействия постоянного электрического поля электрета в условиях, когда не проводилась пластика постнекрэктомического дефекта кости (сопоставление результатов у животных 4-й группы с 3-й и 5-й группами, в которых проведена аутопластика костной полости). Установлено, что у кроликов 4-й группы при схожести скорости течения остеорепаративных процессов значительно запаздывал регресс активности специфического воспаления костной ткани, выразившийся в том, что при

сроке 4 мес в этой группе еще наблюдались элементы воспалительной специфической реакции костной ткани. Этот факт очевидно связан с тем, что незамещенная неспадающая костная полость неминуемо является резервуаром скопления кровяных сгустков, которые представляют собой субстрат развития эндогенных инфекционных изменений, в том числе способствующих поддержанию напряженности текущего специфического воспаления в костной ткани.

О состоянии пуринергической регуляции судили по активности фермента аденозиндезаминазы и ее изоферментов (экто-АДА-1 и экто-АДА-2), дезаминирующих аденозин (короткоживущий медиатор) до инозина. Известно, что экто-АДА-2, экспрессируемый макрофагами, может служить маркером воспалительного ответа и тяжести туберкулезного процесса [17]. От активности экто-АДА-2 зависят уровень внеклеточного аденозина и активация высокоаффинного P_1 -рецептора A_{2A} [18, 19]. От активности другого изофермента — экто-АДА-1 — также зависят уровень внеклеточного аденозина (но в меньшей мере, чем от активности экто-АДА-2) и активация P_1 -рецепторов, в частности высокоаффинных A_1 , A_{2A} и низкоаффинного A_{2B} .

Полученные нами данные свидетельствуют, что во 2-й группе уже через 1 мес после операции определялись прогрессирующие морфологические признаки специфического поражения костной ткани с вовлечением в процесс тканей близлежащего лежащего сустава с дальнейшей манифестацией специфических изменений на последующих сроках эксперимента. На всех сроках исследования в этой группе наблюдали умеренный рост активности экто-АДА-2, связанный с умеренным снижением уровня внеклеточного аденозина и аденозин-ассоциированной активацией A_{2A} -рецептора, играющего критическую роль в регуляции воспаления.

В 3-й группе через 2 мес после хирургического лечения моделированного туберкулезного остита выявленное снижение РОФ (ГП, АГП и альбумина) может отражать состояние печени животных. Снижение уровня гаптоглобина и орозомукоида может также свидетельствовать и о внутрисосудистом гемолизе. В то же время сохранение активности экто-АДА-1 и экто-АДА-2 в пределах интактной группы возможно указывает на сохранение баланса между аденозиновыми рецепторами и, вероятно, отражает установленное нами значительное снижение выраженности специфических изменений костной ткани. Через 4 мес уровень РОФ, кроме уровня альбумина, нормализовался, что сочеталось с морфологическим проявлением затихания специфического воспалительного процесса в костной ткани. О правомерности данного заключения свидетельствуют и выявленные корреляции уровня ГП с морфологическими показателями —

с активными остеобластами, с пролиферацией остеобластов в костных балках ($r=0,95$; $p=0,05$).

В 4-й группе, животным которой был установлен электрет, выявлен чрезмерный рост активности общей АДА, экто-АДА-1 и экто-АДА-2 в течение всего эксперимента, что свидетельствует о снижении уровня внеклеточного аденозина и соответствующих аденозиновых рецепторов, в том числе A_1 -аденозинового рецептора. Показано, что A_1 -рецептор имеет решающее значение для дифференцировки и функции остеокластов [20]. Необходимо отметить, что повышение активности аденозиндезаминазы и ее изоферментов выявлено на фоне значительного снижения активности туберкулезных изменений костной ткани через 2 мес, а также дальнейшего ее регресса через 4 мес после некрэктомии, что, вероятнее всего, обусловлено известными данными о том, что квазистатическое поле может оказывать стимулирующее влияние на пролиферативную и метаболическую активность остеоцитов и хондроцитов [21]. В этой связи можно было бы предположить, что при этом увеличивается и уровень медиаторов (аденозина) и, как следствие, активность аденозиндезаминазы. С этим согласуется и нормализация РОФ на отдаленных сроках исследования.

В 5-й группе, где также был установлен электрет, наряду с замещением постнекрэктомической полости аутокостным трансплантатом, отмечен умеренный рост активности АДА на фоне морфологических признаков туберкулезного воспаления. При этом умеренное снижение аденозина сопровождается ростом активности эластазы, активность которой индуцирует рецептор A_{2A} [22]. Показано, что активация A_{2A} -рецептора противостоит остеокластогенезу, уменьшает резорбцию кости и повышается на более поздних

стадиях дифференцировки остеобластов [23–27], что соответствует незначительным деструктивным изменениям в зоне канала электрета без воспалительной реакции.

Таким образом, результаты оценки показателей воспалительного ответа позволяют заключить, что имплантация электрета при замещении деструктивной полости аутокостным трансплантатом способствовала более интенсивной регрессии активности специфического воспаления костной ткани.

Заключение

Таким образом, проведенное комплексное изучение морфологических и биохимических результатов настоящего исследования позволило заключить, что электрическое поле электрета на основе анодного оксида тантала с отрицательным зарядом внешней поверхности в процессе хирургического лечения моделированного туберкулезного остита дистального метаэпифиза бедренной кости с выполнением пластики постнекрэктомического дефекта в условиях противотуберкулезного лечения способствует активации остеорепаративных процессов и более быстрому регрессу активности специфического воспаления в костной ткани.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МЗ РФ «Комплексная доклиническая оценка новых противотуберкулезных агентов, кандидатных вакцин, клеточных продуктов и наноструктурированных материалов для лечения туберкулеза» (2018–2020).

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

Список литературы

- Schloßhauer T., Priepke E., Rehart S. et al. Osseous Tuberculosis — interdisciplinary treatment from diagnostics to microsurgical defect reconstruction — Case report and review of the literature and proposal of a therapeutic algorithm. *Handchir. Mikrochir Plast. Chir.* 2019; 51 (6): 492–500. doi: 10.1055/a-0840-3513.
- Barik S., Choudhury A.K., Singh V. et al. Osteoarticular Tuberculosis: A Retrospective Analysis of 103 Cases. *Curr Health Sci J.* 2019; 45 (2): 142–147. doi: 10.12865/CHSJ.45.02.03.
- Сердобинцев М.С., Бердес А.И., Бурлаков С.В. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза костей и суставов у взрослых. Медицинский альянс 2014; 4: 52–62 [Serdobintsev M.S., Berdes A.I., Burlakov S.V. i dr. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of tuberculosis of bones and joints in adults. *Medicinskij al'jans* 2014; 4: 52–62 (In Russ.)].
- Кафтырев А.С., Сердобинцев М.С., Линник С.А. и др. Биоситалл в хирургии туберкулеза костей и суставов. *Травматология и ортопедия России* 2010; 1 (55): 28–32 [Kaftyrev A.S., Serdobintsev M.S., Linnik S.A. i dr. Biositall in the surgery of tuberculosis of bones and joints. *Traumatology and Orthopedics of Russia* 2010; 1 (55): 28–32 (In Russ.)].
- Babhulkar S., Pande S. Tuberculosis of the Hip. *Clin Orthop Relat Res.* 2002; 398: 93–99. doi: 10.1097/00003086-200205000-00013.
- Tiwari A., Karkhur Y., Maini L. Total hip replacement in tuberculosis of hip: A systematic review. *J. Clin. Orthop Trauma* 2018; 9(1): 54–57. doi: 10.1016/j.jcot.2017.09.013.
- Линник С.А., Хомутов В.П. Исследование эффективности электростатического поля в лечении остеоартроза. *РМЖ. Медицинское обозрение* 2017; 1: 2–5. [Linnik S.A., Homutov V.P. Study of the effectiveness of the electrostatic field in the treatment of osteoarthritis RMZh. *Medicinskoe obozrenie* 2017; 1: 2–5 (In Russ.)].
- Моргунов М.С., Кузнецов В.В., Ершов М.В. Электретные стимуляторы остеорепарации на основе анодного оксида тантала для лечения остеоартроза. *Медицинская техника* 2018; 3: 17–20 [Morgunov M.S., Kuznecov V.V., Ershov M.V. Electret stimulants of osteoreparation based on anodic tantalum oxide for the treatment of osteoarthritis. *Medicinskaja tehnika* 2018; 3: 17–20 (In Russ.)].

9. *Pellegatti P., Falzoni S., Donvito G. et al.* P2X7 receptor drives osteoclast fusion by increasing the extracellular adenosine concentration. *FASEB J.* 2011; 25 (4): 1264–1274. doi: 10.1096/fj.10169854.
10. *Mediero A., Cronstein B.N.* Adenosine and bone metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 2013; 24 (6): 290–300. doi: 10.1016/j.tem.2013.02.001.
11. *Васильева С.Н., Кафтырев А.С., Виноградова Т.И. и др.* Способ моделирования туберкулезного остита различной степени тяжести. Патент на изобретение RU 2421823 C1, 20.06.2011. Заявка № 2009140048/14 от 29.10.2009 [*Vasil'eva, S.N., Kaftyrev A.S., Vinogradova T.I. i dr.* Method for modeling tuberculous osteitis of varying severity. Patent on izobretenie RU 2421823 C1, 20.06.2011. Zayavka N 2009140048/14 ot 29.10.2009 (In Russ.)].
12. *Моргунов М.С., Нетупский И.В., Орлов В.М. и др.* Импланты с электретным покрытием из анодного оксида тантала и полимера. *Материаловедение* 2012; 7: 26–29 [*Morgunov M.S., Netupskij I.V., Orlov V.M. idr.* Electret-coated implants of anodic tantalum oxide and polymer. *Materialovedenie* 2012; 7: 26–29 (In Russ.)].
13. *Giusti G.* Adenosine deaminase. *Methods of enzymatic analysis.* Ed. H. Bergmeyer. New York: Academic Press. 1974; (2): 1092–1099.
14. *Visser L., Blout E.* The use of P-Nitrophenil-N-Tertbutyloxylcarbonyl L-Alaninate as substrate for elastase. New York. 1972; 919.
15. Биохимические методы исследования в клинике. Под ред. А.А. Покровского. Москва, Медицина. 1969; 652. [Biochemical research methods in the clinic. Pod red. A.A. Pokrovskogo. Moscow, Medicina. 1969; 652. (In Russ.)].
16. *Волков А.В., Большакова Г.Б.* Гистоморфометрия костной ткани в регенеративной медицине. Клиническая и экспериментальная морфология 2013; 3 (7): 65–72 [*Volkov A.V., Bol'shakova G.B.* Bone histomorphometry in regenerative medicine. *Klinicheskaja i jeksperimental'naja morfologija* 2013; 3 (7): 65–72 (In Russ.)].
17. *Zavialov A.V., Gracia E., Glaichenhaus N. et al.* Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 2010; 88 (2): 279–290. doi: 10.1189/jlb.1109764.
18. *Antonoli L., Csóka B., Fornai M. et al.* Adenosine and inflammation: what's new on the horizon? *Drug Discov. Today* 2014; 19 (80): 1051–1068. doi: 10.1016/j.drudis.2014.02.010.
19. *Thiel M., Chouker A., Ohta A. et al.* Oxygenation inhibits the physiological tissue-protecting mechanism and thereby exacerbates acute inflammatory lung injury. *PLoS Biol.* 2005; 3 (6): 1088–1100. doi: 10.1371/journal.pbio.0030174.
20. *Kara F.M., Chitu V., Sloane J. et al.* Adenosine A1 receptors (A1Rs) play a critical role in osteoclast formation and function. *FASEB J.* 2010; 24 (7): 2325–2333. doi: 10.1096/fj.09-147447.
21. *Александрова О.И., Александрова С.А., Хомутов В.П. и др.* Жизнеспособность клеток различных типов, культивируемых на поверхности медицинского электрета. *Журнал технической физики* 2018; 88 (9): 1348–1354 [*Aleksandrova O.I., Aleksandrova S.A., Homutov V.P. i dr.* Viability of cells of various types cultured on the surface of a medical electret. *Zhurnal tehniczeskoj fiziki* 2018; 88 (9): 1348–1354 (In Russ.)].
22. *Barletta K.E., Ley K., Mehard B.* Regulation of neutrophil function by adenosine. *Arterioscler Thrombvasc Biol.* 2012; 32: 856–864. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.226845.
23. *Mazzon E., Esposito E., Impellizzeri D. et al.* CGS 21680, an agonist of the adenosine (A2A) receptor, reduces progression of murine type II collagen-induced arthritis. *J. Rheumatol.* 2011; 38 (10): 2119–2129. doi: 10.3899/jrheum.110111.
24. *Mediero A., Kara F.M., Wilder T. et al.* Adenosine A(2A) receptor ligation inhibits osteoclast formation. *Am. J. Pathol.* 2012; 180 (2): 775–786. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.10.017.
25. *Gharibi B., Abraham A.A., Ham J. et al.* Adenosine receptor subtype expression and activation influence the differentiation of mesenchymal stem cells to osteoblasts and adipocytes. *J. Bone Miner.* 2011; 26: 2112–2124. doi: 10.1002/jbmr.424.
26. *Gharibi B., Abraham A.A., Ham J., Evans B.A.* Contrasting effects of A1 and A2b adenosine receptors on adipogenesis. *Int. J. Obes. (Lond.)* 2012; 36 (3): 397–406. doi: 10.1038/ijo.2011.129.
27. *Takedachi M., Oohara H., Smith B.J. et al.* CD73-generated adenosine promotes osteoblast differentiation. *J. Cell Physiol.* 2012; 227 (6): 2622–2631. doi: 10.1002/jcp.23001.

Поступила в редакцию 15.10.2020 г.

Сведения об авторах:

Сердобинцев Михаил Сергеевич — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель направления «Костно-суставная хирургия и ортопедия» Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: osteolog@mail.ru; ORCID 0000-0002-4066-1087;

Виноградова Татьяна Ивановна — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, координатор направления «Экспериментальный туберкулез и инновационные технологии» Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: vinogradova@spbniif.ru; ORCID 0000-0002-5234-349X;

Дьякова Марина Евгеньевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: marinadyakova@yandex.ru; ORCID 0000-0002-7810-880X;

Эсмедляева Дилжара Салиевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: diljara-e@yandex.ru; ORCID 0000-0002-9841-0061;

Блюм Наталья Михайловна — врач-патологоанатом, директор ООО «Межрегиональный лабораторный центр»; 192238, Санкт-Петербург, ул. Олеко Дундича, д. 8, корп. 2, лит. А; e-mail: blumn@mail.ru; ORCID 0000-0003-1445-6714;

Догондзе Марине Зауриевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: marine-md@mail.ru; ORCID 0000-0002-9161-466X;


Баранов Андрей Викторович — стажер-исследователь Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: doct.baranov@yandex.ru; ORCID 0000-0003-0081-8198;
Кафтырев Александр Сергеевич — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: niif5@yandex.ru; ORCID 0000-0001-8367-3734;

Роднова Ирина Геннадьевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: igrod1307@mail.ru; ORCID 0000-0001-9164-6437;

Черкасов Артур Юрьевич — аспирант Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: Arthur_cherkasov@mail.ru; ORCID 0000-0002-6478-7645;

Соколов Евгений Георгиевич — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; e-mail: eg.sokolovich@spbniif.ru; ORCID 0000-0003-4794-0588;

Яблонский Петр Казимирович — доктор медицинских наук, профессор; директор Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 2-4; декан медицинского факультета, заведующий кафедрой госпитальной хирургии Санкт-Петербургского государственного университета; 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9; e-mail: piotr_yablonskii@mail.ru; ORCID 0000-0003-4385-9643.

<p style="text-align: center; font-weight: bold;">Извещение</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center; font-weight: bold;">Кассир</p>	<p style="text-align: right; font-size: small;">Форма № ПД-4</p> <p>Ассоциация «НАФ» <small>(наименование получателя платежа)</small></p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">7</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">8</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">9</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;"> </td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;"> </td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">7</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">8</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">1</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td> </tr> <tr> <td colspan="12" style="text-align: center; font-size: x-small;">(ИНН получателя платежа)</td> <td colspan="16" style="text-align: center; font-size: x-small;">(номер счёта получателя платежа)</td> </tr> </table> <p>СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ БАНК ОАО «СБЕРБАНК РОССИИ» в г. Санкт-Петербург <small>(наименование банка)</small></p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">6</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td colspan="9" style="text-align: center; font-size: x-small;">(БИК)</td> </tr> </table> <p>Кор./сч.: 3 0 1 0 1 8 1 0 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 6 5 3</p> <p>Подписка на журнал МедАльянс на 2021 год (4 номера) <small>(наименование платежа)</small></p> <p>Ф.И.О. плательщика: _____ Адрес плательщика: _____ Сумма платежа: 2 400.00 руб. В том числе НДС: 400 руб. Итого: 2 400.00 руб. Дата: _____</p> <p><small>С условиями приёма указанной в платёжном документе суммы, в т. ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.</small></p> <p style="text-align: center;">Плательщик (подпись): _____</p>	7	8	4	2	2	9	0	5	5	0			4	0	7	0	3	8	1	0	4	5	5	2	3	0	0	0	0	4	0	0	(ИНН получателя платежа)												(номер счёта получателя платежа)																0	4	4	0	3	0	6	5	3	(БИК)								
7	8	4	2	2	9	0	5	5	0			4	0	7	0	3	8	1	0	4	5	5	2	3	0	0	0	0	4	0	0																																																
(ИНН получателя платежа)												(номер счёта получателя платежа)																																																																			
0	4	4	0	3	0	6	5	3																																																																							
(БИК)																																																																															
<p style="text-align: center; font-weight: bold;">Квитанция</p> <p style="text-align: center; font-weight: bold;">Кассир</p>	<p>Ассоциация «НАФ» <small>(наименование получателя платежа)</small></p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">7</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">8</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">9</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;"> </td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;"> </td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">7</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">8</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">1</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">2</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td> </tr> <tr> <td colspan="12" style="text-align: center; font-size: x-small;">(ИНН получателя платежа)</td> <td colspan="16" style="text-align: center; font-size: x-small;">(номер счёта получателя платежа)</td> </tr> </table> <p>СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ БАНК ОАО «СБЕРБАНК РОССИИ» в г. Санкт-Петербург <small>(наименование банка)</small></p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">4</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">0</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">6</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">5</td><td style="border: 1px solid black; width: 20px; text-align: center;">3</td> </tr> <tr> <td colspan="9" style="text-align: center; font-size: x-small;">(БИК)</td> </tr> </table> <p>Кор./сч.: 3 0 1 0 1 8 1 0 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 6 5 3</p> <p>Подписка на журнал МедАльянс на 2021 год (4 номера) <small>(наименование платежа)</small></p> <p>Ф.И.О. плательщика: _____ Адрес плательщика: _____ Сумма платежа: 2 400.00 руб. В том числе НДС: 400 руб. Итого: 2 400.00 руб. Дата: _____</p> <p><small>С условиями приёма указанной в платёжном документе суммы, в т. ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.</small></p> <p style="text-align: center;">Плательщик (подпись): _____</p>	7	8	4	2	2	9	0	5	5	0			4	0	7	0	3	8	1	0	4	5	5	2	3	0	0	0	0	4	0	0	(ИНН получателя платежа)												(номер счёта получателя платежа)																0	4	4	0	3	0	6	5	3	(БИК)								
7	8	4	2	2	9	0	5	5	0			4	0	7	0	3	8	1	0	4	5	5	2	3	0	0	0	0	4	0	0																																																
(ИНН получателя платежа)												(номер счёта получателя платежа)																																																																			
0	4	4	0	3	0	6	5	3																																																																							
(БИК)																																																																															