

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ORIGINAL RESEARCH

Хирургия

General Surgery

doi: 10.25005/2074-0581-2025-27-4-890-898

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Т.У. АРИПОВА<sup>1</sup>, А.О. ОХУНОВ<sup>2</sup>, Б.Я. УМАРОВ<sup>3</sup>, Б.З. ХАМДАМОВ<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>2</sup> Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>3</sup> Национальный детский медицинский центр, Ташкент, Республика Узбекистан

<sup>4</sup> Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сино, Бухара, Республика Узбекистан

**Цель исследования:** выявить особенности клинико-иммунологических изменений у больных с длительно незаживающими ранами (ДНЗР) на фоне сахарного диабета (СД).

**Материал и методы:** анализу подвергнуты 34 пациента с ДНЗР на фоне СД, которые составили основную исследовательскую группу. В исследовании также приняли участие 20 здоровых лиц, объединённых в контрольную группу. Клиническая картина ДНЗР оценивалась по местной картине некробиотического процесса. Иммунологическая картина заболевания оценивалась по показателям клеточного и гуморального иммунитета крови.

**Результаты:** на фоне местного воспалительного процесса большая половина ран протекала с некрозом тканей. При этом местный экссудативный процесс напрямую зависел от типа некробиотического процесса в ране. У больных с ДНЗР отмечался значительный рост абсолютных значений CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD23+ и CD38+ клеток в динамике проведённого лечения по сравнению с исходными данными. По отношению к динамике CD25+, CD95+ и CD16+ клеток выявлена разнонаправленность изменений относительных и абсолютных значений на фоне высоких концентрация цитокинов IL-17A и IL-10 ( $p < 0,001$ ).

**Заключение:** у больных с ДНЗР на фоне СД, несмотря на разнообразную форму некробиотического процесса, отмечается ряд закономерных изменений в виде развития дисбаланса показателей Т- и В-лимфоцитов, которые могут свидетельствовать о наличии напряжённости в иммунной системе. Неблагоприятный прогноз течения ДНЗР у больных СД проявляется значительным ростом цитокинов IL-17A и IL-10.

**Ключевые слова:** длительно незаживающие раны, сахарный диабет, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, некробиотический процесс ран.

**Для цитирования:** Арипова ТУ, Охунув АО, Умаров БЯ, Хамдамов БЗ. Клинико-иммунологические параллели длительно незаживающих ран у больных сахарным диабетом. *Вестник Авиценны*. 2025;27(4):890-8. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2025-27-4-890-898>

## CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARALLELS IN LONG-TERM NON-HEALING WOUNDS OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

T.U. ARIPOVA<sup>1</sup>, A.O. OKHUNOV<sup>2</sup>, B.YA. UMAROV<sup>3</sup>, B.Z. KHAMDAMOV<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>2</sup> Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>3</sup> National Pediatric Medical Center, Tashkent, Republic of Uzbekistan

<sup>4</sup> Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Republic of Uzbekistan

**Objective:** To identify clinical and immunological changes in patients with long-term non-healing wounds (LTNHW) on the background of diabetes mellitus (DM).

**Methods:** Thirty-four patients with LTNHW on the background of DM were enrolled in the study as the main group, with twenty healthy individuals comprising the control group. The clinical picture of LTNHW was evaluated based on the local necrobiotic process. The immunological status was assessed based on parameters of cellular and humoral immunity.

**Results:** Against the background of a local inflammatory process, tissue necrosis was discovered in more than one half of the wounds. At the same time, the local exudative process directly depended on the type of necrobiotic changes in the wound. In patients with LTNHW, compared to the baseline, a significant increase in the absolute counts of CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD23+, and CD38+ cells was found in the course of treatment. With respect to the dynamics of CD25+, CD95+, and CD16+ cells, multidirectional changes of relative and absolute counts were identified against a background of elevated IL-17A and IL-10 cytokine levels ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** In patients with LTNHW on a background of DM, despite the variable forms of the necrobiotic process, several changes are consistently observed, indicating imbalances in T- and B-lymphocyte ratios, which may reflect immunological strain. An unfavorable prognosis for the course of LTNHW in patients with DM is associated with a significant increase in IL-17A and IL-10 cytokine levels.

**Keywords:** Long-term non-healing wounds, diabetes mellitus, cellular immunity, humoral immunity, wound necrobiotic process.

**For citation:** Aripova TU, Okhunov AO, Umarov BYa, Khamdamov BZ. Kliniko-immunologicheskie paralleli dlitel'no nezazhivayushchikh ran u bol'nykh sakharnym diabetom [Clinical and immunological parallels in long-term non-healing wounds of patients with diabetes mellitus]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2025;27(4):890-8. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2025-27-4-890-898>

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что длительно незаживающие раны (ДНЗР) – это раны, которые не заживают в течение срока, обычного для заживления повреждений подобного типа или локализации. Такие раны чаще всего развиваются у больных с коморбидным течением патологического процесса на фоне сахарного диабета (СД), венозной недостаточности, компрессионного синдрома [1].

До настоящего времени многие аспекты лечения ДНЗР остаются до конца нерешёнными. Всё это определяет не только социальную, но и экономическую важность данной проблемы. Наличие затяжного характера регенерации ДНЗР, вследствие постоянной экссудации, некроза тканей и реинфицирования, послужили, в определённой степени, предпосылками к исследованию иммунологической реакции организма в качестве залога улучшения результатов лечения больных с данной патологией [2].

Известно, что в поддержании провоспалительного профиля ДНЗР активное участие принимают Т-клетки, число которых повышается у больных СД, особенно уровень их воспалительных подтипов [3]. При этом, подобные изменения, по-видимому, происходят вследствие наличия активного взаимодействия иммунных клеток с клетками некроветворного ряда, в частности – кератиноцитами, которые вносят значительный вклад в формирование ДНЗР у больных СД [4-7].

Доказано, что длительное присутствие нейтрофилов и макрофагов в раневом дефекте стимулирует местную воспалительную реакцию, нарушение микроциркуляции и рост фиброзной ткани [8]. Такая взаимосвязь патогенеза хронического местного воспалительного процесса и клеток иммунологического ряда может свидетельствовать об одной из первостепенной значимости иммунной системы организма в определении исхода течения ДНЗР путём разработки таргетных методов коррекции выявленных изменений.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление особенностей клинико-иммунологических изменений у больных с ДНЗР на фоне СД.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 34 больных с ДНЗР на фоне СД, которые находились на лечении и обследовании в многопрофильной клинике Ташкентской медицинской академии за период с 2021 по 2023 гг. Все они составили основную группу (ОГ). В контрольную группу (КГ) вошли 20 лиц, признанных медицинской комиссией абсолютно здоровыми.

Критериями включения больных в ОГ были: наличие письменного согласия на проведение исследования; возраст больных старше 18 лет; отсутствие беременности у больных женского пола; обязательное наличие СД и ДНЗР.

Средний возраст больных приравнялся 56,8±11,9 годам, преобладали больные мужского пола – 21 (62%). СД преимущественно был представлен II его типом – 32 пациента (94%), а больных с I типом СД соответственно было 2 человека (6%). Средний стаж СД составлял 15,5±0,52 лет.

ДНЗР были представлены осложнениями синдрома диабетической стопы в виде нейротрофических язв. У 14 (41%) язвенно-некротический процесс располагался на правой стопе, у 11 (32%) больных – на левой стопе и у 9 (26%) больных – на обеих стопах. Средний период течения ДНЗР составил 10,3±0,36 месяцев.

## INTRODUCTION

It is known that long-term non-healing wounds (LTNHW) do not heal within the time frame typical for healing of injuries of a similar type or localization. Most often such wounds develop in patients with comorbid pathology on the background of diabetes mellitus (DM), venous insufficiency, or compression syndrome [1].

To date, many aspects of LTNHW treatment remain unresolved, which is not only of social but also of economic importance. The prolonged time to LTNHW regeneration due to constant exudation, tissue necrosis, and reinfection, prompts the study of the body's immunological response as a key factor in improving treatment outcomes in patients with this pathology [2].

It is known that T-cells, especially of pro-inflammatory subtypes, play an active role in maintaining the pro-inflammatory profile of LTNHW, and their counts increase in patients with DM [3]. At the same time, such changes apparently result from active interaction of immune cells with non-hematopoietic cells, particularly keratinocytes, which make a significant contribution to LTNHW development in patients with DM [4-7].

It has been proven that prolonged presence of neutrophils and macrophages in the wound defect stimulates local inflammatory reactions, microcirculatory disorders, and formation of fibrous tissue [8]. Such an interrelation between the pathogenesis of a chronic local inflammatory process and immunocytes may indicate the primary importance of the body's immune system in determining the outcome of LTNHW, which requires the development of targeted methods to correct the identified changes.

## PURPOSE OF THE STUDY

To identify clinical and immunological changes in patients with LTNHW on the background of DM.

## METHODS

The study included 34 patients with LTNHW on the background of DM who were treated and examined at the multidisciplinary clinic of the Tashkent Medical Academy from 2021 to 2023. All of them formed the main group (MG). The control group (CG) consisted of 20 individuals recognized by the medical board as absolutely healthy.

The inclusion criteria for the MG were: availability of written informed consent to participate in the study; age over 18 years; absence of pregnancy in female patients; mandatory presence of DM and LTNHW.

The mean age of patients was 56.8±11.9 years; the majority of them were males (62%). DM type II was diagnosed in 32 patients (94%), and 2 patients (6%) had DM type I. The mean duration of DM was 15.5±0.52 years.

LTNHW were represented by complications of diabetic foot syndrome in the form of neurotrophic ulcers. In 14 (41%) patients, the ulcerative-necrotic process was located on the right foot, in 11 (32%) – on the left foot, and in 9 (26%) – on both feet. The mean duration of LTNHW was 10.3±0.36 months.

The clinical manifestations of LTNHW were assessed according to the local picture of the necrobiotic process (presence of inflammatory reaction, type of necrosis, condition of tissues in the wound bed, nature of exudate).

The patients underwent surgical debridement of the purulent wound loci and necrectomy, if indicated. Wound surface was

Клинические проявления ДНЗР оценивались по местной картине течения некробиотического процесса (наличие воспалительной реакции, тип некроза, ткани в ложе, характер экссудата).

Лечебные мероприятия включали в себя применение хирургической обработки гнойного очага и некрэктомии при наличии соответствующих показаний. Раневая поверхность тщательно санировалась антисептиками (3% раствор перекиси водорода, раствор фурацилина в концентрации 1:5000, 0,1% раствор перманганата калия, 1% раствор диоксидина), и накладывались повязки с мазями на водорастворимой основе (левомеколь). Общим методом лечения больных с ДНЗР на фоне СД было применение антибиотикотерапии, патогенетической терапии (тромбоцитарные дезагреганты, флеботонизирующие препараты, периферические вазодилаторы, препараты метаболического действия).

Забор проб крови для проведения исследований проводился путём пункции локтевой вены на 1, 7 и 14-ые сутки лечения больных с ДНЗР (ОГ) и однократно – у здоровых людей, которые составили КГ.

Все исследования были проведены в Институте иммунологии и геномики человека АН РУз.

Подсчёт лейкоцитов и лимфоцитов проводился в камере Горяева с окрашиванием по методу С.И. Задорожного и И.М. Дозморова [9].

Мононуклеарные клетки верифицировались по методу A. Böyum [10]. Среди маркёров иммунокомпетентных клеток определялись: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD23+, CD25+, CD38+ и CD95+ лимфоциты. При этом экспрессия рецепторов CD проводилась с помощью моноклональных антител серии LT производства ООО «Сорбент» (РФ) по методу F.Y. Garib и A.P. Rizopulu [11].

Гуморальный иммунитет определялся по показателям интерлейкинов 17A и 10 иммуноферментным анализом при помощи тест-набора «Цитокин» (Санкт-Петербург, РФ).

Исследование было одобрено Комиссией по этике Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 10 января 2021 года (протокол заседания № 127/42).

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета статистических программ SAS 6.11. Все вариационные ряды были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Во всех вариационных рядах распределение было нормальным ( $p > 0,05$ ). Ввиду нормального распределения вариационных рядов, статистический анализ проводился по критериям параметрической статистики. Количественные показатели были представлены в виде среднего значения со стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ), а качественные показатели – в виде частот и долей (%). Множественные сравнения между показателями количественных показателей проводились по критерию ANOVA, а сравнение посуточных показателей с контрольной группой – по критерию Ньюмена-Кейлса. Сравнение посуточных показателей между собой проводилось по критерию ANOVA повторных измерений (rANOVA). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05/df$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Местный воспалительный процесс был диагностирован у всех 34 больных ОГ. При этом у 25 (73%) пациентов раневой процесс протекал с некрозом тканей. Сухой некроз был в 12 (35%), влажный – в 4 (12%) и смешанный – в 18 (53%) случаях.

Экссудат раны носил разных характер: в 8 (23%) случаях он носил серозный характер, ещё в 8 (23%) – серозно-геморрагический характер. Геморрагический характер экссудата был конста-

carefully sanitized with antiseptics (3% hydrogen peroxide solution, furacilin solution 1:5000, 0.1% potassium permanganate solution, 1% dioxidine solution), and dressings with water-soluble ointments (levomekol) were applied. A general method of treating patients with LTNHW on the background of DM was the use of antibiotics and pathogenetic therapy (antiaggregants, phlebotonic drugs, peripheral vasodilators, metabolic drugs).

Blood sampling for the studies was performed by puncture of the cubital vein on days 1, 7, and 14 of treatment in patients with LTNHW (MG), and once in healthy individuals who comprised the CG.

All studies were carried out in the Institute of Immunology and Human Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan.

Leukocyte and lymphocyte counts were performed in a Goryaev chamber with staining according to the method of S.I. Zadorozhny and I.M. Dozmorov [9].

Mononuclear cells were verified by the method of A. Böyum [10]. Among the markers of immunocytes, the following types of cells were determined: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD23+, CD25+, CD38+, and CD95+ lymphocytes. CD expression was assessed using LT-series of monoclonal antibodies manufactured by LLC "Sor bent" (Russian Federation) according to the method of F.Y. Garib and A.P. Rizopulu [11].

Humoral immunity was assessed by the levels of IL-17A and IL-10 using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the "Cytokine" test kit (Saint Petersburg, Russian Federation).

The study was approved by the Ethics Committee of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan on January 10, 2021 (protocol No. 127/42).

Statistical processing of the obtained data was carried out using the SAS 6.11 statistical software package. All data distributions were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. In all data series, the distribution was normal ( $p > 0.05$ ). In view of the normal distribution, statistical analysis was performed using parametric statistics. Quantitative variables were presented as mean  $\pm$  standard deviation ( $M \pm SD$ ), and qualitative variables as frequencies and percentages (%). Multiple comparisons of quantitative indicators were performed using ANOVA, and comparison of daily (time-point) indicators with the CG was done using the Newman-Keuls test. Comparison of daily indicators with each other was carried out using ANOVA (rANOVA) repeated-measurements. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05/df$ .

## RESULTS

A local inflammatory process was diagnosed in all 34 MG patients. At the same time, in 25 (73%) patients the wound process was accompanied by tissue necrosis. Dry necrosis was observed in 12 (35%), wet necrosis – in 4 (12%), and mixed necrosis – in 18 (53%) cases.

The wound exudate had different characteristics: in 8 (23%) cases it was serous; in another 8 (23%) cases it proved to be sero-hemorrhagic. A hemorrhagic type of exudate was recorded in 11 (32%) patients, and in 7 (31%) patients the exudate was purulent. The dependence of the type of exudate on the type of tissue in the wound bed is reflected in Table 1.

The characteristics of the exudate differed depending on the type of tissue in the bed of the LTNHW. We found that wounds with dense granulation tissue were most commonly character-

тирован у 11 (32%) больных, а у 7 (31%) пациентов экссудат был гнойным. Зависимость вида экссудата от типа ткани в ране представлена в табл. 1.

Характер экссудата отличался зависимостью от типа ткани в ложе ДНЗР. Нами было выявлено, что для ран с плотной грануляционной тканью в большей степени характерным было наличие серозного экссудата, без запаха. В то же время, при наличии в ДНЗР хрупкой грануляционной ткани, более чем в половине случаев характерным оказалось наличие серозно-геморрагического экссудата. Фиброзная ткань в ложе длительно незаживающей раны в 78% случаев характеризовалась наличием геморрагического экссудата, а при наличии струпа – основной тип экссудата носил гнойный характер.

Уже на первом этапе проведённых исследований у больных ОГ было выявлено, что показатели клеточного иммунитета до начала лечения статистически значимо отличались от данных КГ ( $p < 0,001$ ) – табл. 2.

Через 2 недели проведённого лечения исследованные 12 иммунокомпетентных Т-клеток статистически значимо отличались от значений на 1-ые сутки исследования ( $p < 0,05$ ). При этом все относительные параметры клеток по сравнению с предыдущим сроком (7-ые сутки) оставались без особых изменений. Лишь

изized by the presence of odorless serous exudate. At the same time, when the LTNHW contained fragile granulation tissue, in more than half of the cases, the exudate was serohemorrhagic. A fibrous wound bed in LTNHW was characterized by hemorrhagic exudate in 78% of cases, whereas in the presence of a crust, the predominant type of exudate was purulent.

Already at the first stage of the study in MG patients, it was found that the indices of cellular immunity before treatment differed statistically significantly from those of the CG ( $p < 0.001$ ) – see Table 2.

After two weeks of treatment, the twelve studied immunocompetent T-cell subpopulations differed statistically significantly from the values obtained on day 1 ( $p < 0.05$ ). At the same time, all relative cell parameters, compared with the previous time point (day 7), remained essentially unchanged. Only the relative numbers of lymphocytes and CD4+ cells reached the CG level ( $p < 0.05$ ), whereas the other parameters remained different from the CG level ( $p < 0.05$ ). All this may indicate reduced responsiveness of immunocompetent cells in patients with LTNHW on a DM background, even after 2 weeks of therapy (Table 3).

By day 7 of treatment in MG patients, 92% of cases showed statistically significant differences in the studied cellular immunity

**Таблица 1** Характер экссудата и тип тканей в ложе ран

Характер экссудата Exudate characteristics	Тип ткани в ложе раны Type of tissue in the wound bed							
	Плотная грануляционная Dense granulation		Хрупкая грануляционная Fragile granulation		Фиброзная Fibrous		Струп Crust	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозный Serous	5	62	3	27	–	–	–	–
Серозно-геморрагический Serohemorrhagic	2	25	6	54	–	–	–	–
Геморрагический Hemorrhagic	1	12	2	18	7	78	1	17
Гнойный Purulent	–	–	–	–	2	22	5	83
Всего Total	8	23	11	32	9	26	6	18

**Table 1** Exudate characteristics and type of tissues in the wound bed

**Таблица 2** Динамика изменения показателей клеточного иммунитета у больных ОГ ( $M \pm SD$ )

Показатели Parameter	КГ/CG (n=20)	Динамика лечения больных ОГ Dynamics of treatment of MG patients (n=34)			$p_0$ (df=3)	$p$ (df=2)
		1-ые сутки Day 1	7-ые сутки Day 7	14-ые сутки Day 14		
Лейкоциты, $\times 10^6/\text{л}$ WBC, $\times 10^6/\text{L}$	6158.9 $\pm$ 72.1	12189.0 $\pm$ 68.0 $p_c < 0.001$	11859.1 $\pm$ 65.0 $p_c < 0.001$	7815.1 $\pm$ 68.1 $p_c < 0.001$	<0.001	<0.001
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	30.5 $\pm$ 0.9	20.8 $\pm$ 1.4 $p_c < 0.001$	29.0 $\pm$ 0.6 $p_c < 0.001$	29.2 $\pm$ 0.5 $p_c < 0.001$	<0.001	<0.001
Лимфоциты, /мкл Lymphocytes, / $\mu\text{L}$	1950.9 $\pm$ 71.9	2668.0 $\pm$ 167.0 $p_c < 0.001$	3561.1 $\pm$ 68.0 $p_c < 0.001$	2366.0 $\pm$ 41.9 $p_c < 0.001$	<0.001	<0.001

**Table 2** Dynamics of changes in cellular immunity in MG patients ( $M \pm SD$ )

Примечания:  $p_0$  – статистическая значимость различий показателей между всеми данными ОГ и КГ (по критерию ANOVA); post-hoc:  $p_c$  – статистическая значимость различий показателей по сравнению с КГ (по критерию Ньюмена-Кейлса; согласно поправке Бонферрони  $\alpha=0,017$ );  $p$  – статистическая значимость различий показателей ОГ по суткам (по критерию rANOVA)

Notes:  $p_0$  – statistical significance of differences between all MG data and CG (ANOVA); post hoc:  $p_c$  – statistical significance of differences compared with CG (Newman-Keuls test; Bonferroni correction  $\alpha=0.017$ );  $p$  – statistical significance of differences in MG by days (rANOVA)

относительное количество лимфоцитов и CD4+-клеток достигало уровня КГ ( $p<0,05$ ), однако остальные показатели всё ещё отличались от них ( $p<0,05$ ). Всё это может свидетельствовать о низкой реакции иммунокомпетентных клеток у больных с ДНЗР на фоне СД даже через 2 недели проведённого лечения (табл. 3).

Уже на 7-ые сутки лечения больных ОГ в 92% случаев исследованные показатели клеточного иммунитета имели статистически значимое различие по отношению к значениям на 1-ые сутки лечения. Хотя эти изменения имели весьма малую интенсивность проявлений, тем не менее они отражали положительную динамику изменений. При этом, такие показатели, как относительное количество лимфоцитов и CD4+ клетки, на данном этапе лечения приближались к значениям КГ, что нельзя отметить по данным остальных исследованных показателей клеточного иммунитета. Следует также отметить увеличение значений абсолютных показателей CD3+, CD4+, CD8+ и CD38+ клеток в динамике проведённого лечения по сравнению с исходными данными.

Исходные значения всех показателей В-клеточного иммунитета были значительно повышенными у больных ОГ ( $p<0,05$ ). В динамике, на 7-ые сутки исследования, абсолютные значения CD20+ и CD23+ клеток продолжали увеличиваться, тогда как относительные их показатели оставались без изменений.

Клетки натуральные киллеры, а также CD25+, CD95+ и CD16+ лимфоциты изменялись в разнонаправленном плане по показателям относительных и абсолютных значений ( $p<0,05$ ) у больных с ДНЗР на фоне СД.

В сравнительном аспекте наиболее статистически значимыми ( $p<0,01$ ) оказались изменения значений CD16+-лимфоцитов по сравнению с КГ. По остальным параметрам (CD25+ клетки и CD95+ лимфоциты) в динамике проведённого исследования особых статистически значимых различий среди больных ОГ нами не выяв-

parameters compared with day 1. Although these changes were of relatively low intensity, they nevertheless reflected a positive trend. At this stage of treatment, parameters such as the relative numbers of lymphocytes and CD4+ cells approached CG values, whereas the other studied cellular immunity indicators did not. It should also be noted that the absolute counts of CD3+, CD4+, CD8+, and CD38+ cells increased over the course of treatment compared with baseline.

Baseline counts of all B-cell immunity parameters were markedly elevated in MG patients ( $p<0.05$ ). In dynamics, by day 7 of the study, the absolute values of CD20+ and CD23+ cells continued to increase, whereas their relative values remained unchanged.

Natural killer cells, as well as CD25+, CD95+, and CD16+ lymphocytes, changed in a multidirectional manner in terms of relative and absolute values ( $p<0.05$ ) in patients with LTNHW on the background of DM.

Compared with the CG, the most statistically significant changes ( $p<0.01$ ) were observed in CD16+ lymphocytes. For the other parameters (CD25+ cells and CD95+ lymphocytes), no statistically significant differences were observed over time in MG patients ( $p>0.05$ ). However, compared with control data, these indicators showed a statistically significant decrease ( $p<0.01$ ).

The cytokines studied in the blood of MG patients at the start of treatment were significantly elevated compared with those of the CG (Table 4).

By day 7 of treatment, the concentrations of the cytokines IL-17A and IL-10 continued to increase ( $p<0.001$ ). Regarding IL-10, there was no statistically significant difference compared with day 1 of treatment in MG patients. Even by day 14 of treatment in MG patients, the blood concentrations of the studied cytokines

**Таблица 3** Динамика изменения относительных и абсолютных значений CD-клеток у больных ОГ ( $M\pm SD$ )

Показатели Indicators	КГ/CG (n=20)	Динамика лечения больных ОГ (n=34) Dynamics of treatment of MG patients			$p_0$ (df=3)	$p$ (df=2)
		1-ые сутки Day 1	7-ые сутки Day 7	14-ые сутки Day 14		
CD3+ (%)	56.5 $\pm$ 1.2	47.2 $\pm$ 1.3 $p_c<0.001$	50.9 $\pm$ 1.7 $p_c<0.001$	51.5 $\pm$ 0.7 $p_c<0.001$	<0.001	<0.001
CD4+ (%)	31.6 $\pm$ 0.8	26.4 $\pm$ 2.1 $p_c<0.001$	27.9 $\pm$ 0.9 $p_c<0.001$	28.4 $\pm$ 1.6 $p_c<0.001$	<0.001	<0.001
CD8+ (%)	24.1 $\pm$ 0.7	18.3 $\pm$ 1.1 $p_c<0.001$	19.3 $\pm$ 0.7 $p_c<0.001$	20.6 $\pm$ 1.8 $p_c<0.001$	<0.001	<0.001
CD38+ (%)	15.8 $\pm$ 0.6	20.1 $\pm$ 1.2 $p_c<0.001$	21.7 $\pm$ 1.5 $p_c<0.001$	22.6 $\pm$ 1.4 $p_c<0.001$	<0.001	=0.002
CD20+ (%)	19.4 $\pm$ 1.4	22.6 $\pm$ 1.0 $p_c<0.001$	21.8 $\pm$ 1.2 $p_c<0.001$	22.5 $\pm$ 0.9 $p_c<0.001$	<0.001	>0.05
CD23+ (%)	12.8 $\pm$ 0.5	19.3 $\pm$ 1.5 $p_c<0.001$	21.9 $\pm$ 1.3 $p_c<0.001$	22.7 $\pm$ 1.6 $p_c<0.001$	<0.001	=0.001
CD25+ (%)	18.6 $\pm$ 0.8	15.1 $\pm$ 1.2 $p_c<0.001$	16.3 $\pm$ 1.1 $p_c<0.001$	15.7 $\pm$ 0.9 $p_c<0.001$	<0.001	=0.002
CD95+ (%)	27.6 $\pm$ 0.8	19.4 $\pm$ 1.2 $p_c<0.001$	21.0 $\pm$ 1.4 $p_c<0.001$	20.2 $\pm$ 1.5 $p_c<0.001$	<0.001	=0.001
CD16+ (%)	12.6 $\pm$ 0.5	17.6 $\pm$ 1.0 $p_c<0.001$	21.7 $\pm$ 0.4 $p_c<0.001$	22.0 $\pm$ 0.4 $p_c<0.001$	<0.001	<0.001

**Table 3** Dynamics of changes in relative and absolute CD+ cell counts in MG patients ( $M\pm SD$ )

**Примечания:**  $p_0$  – статистическая значимость различий показателей между всеми данными ОГ и КГ групп (по критерию ANOVA); post-hoc:  $p_c$  – статистическая значимость различий показателей по сравнению с КГ (по критерию Ньюмена-Кейлса; согласно поправке Бонферрони  $\alpha=0.017$ );  $p$  – статистическая значимость различий показателей ОГ по суткам (по критерию rANOVA)

**Notes:**  $p_0$  – statistical significance of differences in indicators between all data of the MG and the CG (ANOVA); post hoc:  $p_c$  – statistical significance of differences compared with the CG (Newman-Keuls test; Bonferroni correction  $\alpha=0.017$ );  $p$  – statistical significance of differences in MG indicators by days (rANOVA)

лено ( $p > 0,05$ ). Однако в сравнении с данными КГ эти показатели отличались статистически значимым снижением ( $p < 0,01$ ).

Исследованные цитокины крови у больных ОГ на момент начала лечения оказались значительно повышенными по сравнению к данными лиц КГ (табл. 4).

При этом на 7-ые сутки лечения рост концентрации IL-17A и IL-10 цитокинов продолжал увеличиваться ( $p < 0,001$ ). По отношению к IL-10 следует отметить отсутствие статистически значимой разницы по сравнению с 1-ми сутками лечения больных ОГ. Даже на 10-ые сутки проведённого лечения у больных ОГ концентрация уровня исследованных цитокинов не достигала уровня КГ, хотя по отношению к 1-ым суткам было выявлено значительное уменьшение цитокина IL-17A в крови (в 1,6 раза;  $p < 0,001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Слаженный механизм работы основных этапов физиологической регенерации раны является залогом предотвращения развития ДНЗР [12]. Однако, как показали наши исследования, такой процесс у больных с ДНЗР на фоне СД оказался далеко не идеальным.

Несмотря на наличие дифференцированного типа некробиотического процесса (от грануляции до некроза), в ДНЗР у больных СД отмечалось увеличение фактически всех параметров клеточного иммунитета на 1-ые сутки начала лечебных мероприятий, что, по-видимому, было связано с исходным наличием лейкоцитоза. Однако, на фоне снижения лейкоцитоза на 7-ые сутки проведённого лечения нами отмечено увеличение абсолютного количества иммунокомпетентных клеток, что свидетельствует о наличии напряжённости в иммунной системе организма больных с ДНЗР на фоне СД.

Показатели относительных и абсолютных значений CD3+ клеток, а также регуляторных субпопуляций лимфоцитов (CD4+ и CD8+ клеток) у больных с ДНЗР на фоне СД изменялись разнонаправленно, но с идентичной тенденцией. Так же, изменения количества CD4+ и CD8+ клеток приводило к статистически значимому изменению их соотносительного индекса. Известно, что структурные клетки иммунной системы оказывают регулирующее влияние на ряд цитокинов, которые, в свою очередь, могут определить исход ДНЗР [13].

Нами было отмечено статистически значимое повышение как относительного, так и абсолютного значения CD38+ лимфоцитов у больных с ДНЗР, что является прямым признаком увеличения активности данного вида лимфоцитов при осложнённой форме течения СД. К этому можно отнести и значительный рост относительного и абсолютного значения содержания в крови

did not reach CG levels, although, compared with day 1, IL-17A decreased by 1.6-fold ( $p < 0.001$ ).

## DISCUSSION

Well-coordinated main stages of physiological wound regeneration are key to preventing the development of LTNHW [12]. However, as our study showed, this process in patients with LTNHW on the background of DM was far from ideal.

Despite the presence of a differentiated necrobiotic process (from granulation to necrosis), in LTNHW patients with DM, an increase in virtually all cellular immunity parameters was observed on day 1 of treatment, which was apparently associated with the initial leukocytosis. However, despite a decrease in leukocytosis by day 7 of treatment, we observed an increase in the absolute number of immunocompetent cells, indicating immune system strain in patients with LTNHW on the background of DM.

The indicators of relative and absolute CD3+ cell counts, as well as of the regulatory lymphocyte subpopulations (CD4+ and CD8+ cells), in patients with LTNHW on the background of DM changed in different directions, but with the same trend. Likewise, changes in the number of CD4+ and CD8+ cells led to a statistically significant change in their ratio index. It is known that immunocytes regulate the production of various cytokines, which, in turn, can determine the outcome of LTNHW [13].

We noted a statistically significant increase in both relative and absolute CD38+ lymphocyte counts in patients with LTNHW, a direct sign of increased lymphocyte activity in complicated forms of DM. It also includes a significant increase in the relative and absolute blood counts of CD20+ and CD23+ cells (on average by  $1.68 \pm 0.52$  times) compared with CG values.

A decrease in the blood counts of lymphocytes expressing markers of early activation and readiness for apoptosis (CD25+ and CD95+ cells) was observed, while the number of CD16+ cells (natural killer cells) increased in patients with LTNHW and DM. The defect in immune cell recruitment is directly linked to the pathogenesis of LTNHW in patients with DM [14].

Strain in the body's immune system was also noted in terms of changes in the absolute and relative counts of B-lymphocytes in the blood of MG patients. This may be associated with impaired expression of these cells' markers in an immunodeficient background.

The studied humoral immunity parameters showed multidirectional changes, particularly in patients with an unfavorable prognosis in LTNHW on the background of DM.

**Таблица 4** Динамика изменения показателей гуморального иммунитета у больных ОГ ( $M \pm SD$ )

Показатели Indicators	КГ/CG (n=20)	Динамика лечения больных ОГ Dynamics of treatment of MG patients (n=34)			p0 (df=3)	p (df=2)
		1-ые сутки Day 1	7-ые сутки Day 7	14-ые сутки Day 14		
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/ml	3.9±1.0	213.9±3.7 $p < 0.001$	253.9±4.2 $p < 0.001$	138.7±3.2 $p < 0.001$	<0.001	<0.001
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	13.6±1.5	64.7±1.1 $p < 0.001$	68.6±1.1 $p < 0.001$	62.8±1.1 $p < 0.001$	<0.001	<0.001

Примечания: p0 – статистическая значимость различий показателей между всеми данными ОГ и КГ (по критерию ANOVA); post-hoc: p – статистическая значимость различий показателей по сравнению с КГ (по критерию Ньюмена-Кейлса; согласно поправке Бонферрони  $\alpha = 0,017$ ); p – статистическая значимость различий показателей ОГ по суткам (по критерию rANOVA)

Notes: p0 – statistical significance of differences in indicators between all data of the MG and the CG (ANOVA); post hoc: p – statistical significance of differences in indicators compared with the CG (Newman-Keuls test; Bonferroni correction  $\alpha = 0.017$ ); p – statistical significance of differences in MG indicators by days (rANOVA)

**Table 4** Dynamics of changes in humoral immunity parameters in MG patients ( $M \pm SD$ )

CD20+ и CD23+ клеток (в среднем в  $1,68 \pm 0,52$  раза) по отношению к показателям КГ.

Снижение содержания в крови лимфоцитов с маркерами ранней активации и готовности клеток к апоптозу (CD25+ и CD95+ клетки) происходило на фоне роста количества CD16+ клеток (натуральных киллеров) у больных с ДНЗР на фоне СД. Дефект набора иммунных клеток напрямую связан с патогенезом течения ДНЗР у больных СД [14].

Напряжённость в иммунной системе организма также отмечалась и по параметрам изменения абсолютных и относительных показателей В-лимфоцитов в крови больных ОГ. Это может быть связано с нарушением их экспрессии в условиях иммунодефицитного фона.

Исследованные нами показатели гуморального иммунитета имели изменения, которые характеризовались разнонаправленностью, в особенности у больных с неблагоприятным прогнозом течения ДНЗР на фоне СД.

По данным литературных источников [15, 16], изменение экспрессии провоспалительных цитокинов, в частности интерлейкинов 17А и 10, в подобном характере, может быть связано с течением раневого процесса на фоне СД в условиях истощения иммунной системы.

Некроз раны, характеризующий развитие ДНЗР, развивается в результате поляризации макрофагов, активации и дегрануляции ряда Т-лимфоцитов, что, в свою очередь, приводит к чрезмерной экспрессии цитокинов [17].

Сохранение ДНЗР у больных СД происходит при отсутствии соответствующих условий для нормального процесса восстановления иммунного дисбаланса, что является причиной сохранения воспалительного процесса, фиброза тканей и плохой васкуляризации [18, 19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у больных с ДНЗР на фоне СД, несмотря на разнообразную форму некробиотического процесса, отмечается ряд закономерных изменений в виде развития дисбаланса показателей Т- и В-лимфоцитов, которые могут свидетельствовать о наличии напряжённости в иммунной системе. При этом, в условиях снижения одного из компонентов иммунной системы, отмечается увеличение экспрессии другого компонента иммунитета, что происходит с целью взаимного дополнения функции друг друга. Неблагоприятный прогноз течения ДНЗР у больных СД проявляется значительным ростом цитокинов IL-17А и IL-10.

According to the literature [15, 16], such a pattern of changes in the expression of pro-inflammatory cytokines, in particular IL-17A and IL-10, may be associated with the course of wound healing in DM under conditions of immune cells depletion.

Wound necrosis, which characterizes the development of LTNHW, develops as a result of macrophage polarization, activation and degranulation of a number of T-lymphocytes, which, in turn, leads to excessive cytokine expression [17].

Persistence of LTNHW in patients with DM occurs in the absence of appropriate conditions for the normal process of restoring immune balance, which leads to persistent inflammation, tissue fibrosis, and poor vascularization [18, 19].

## CONCLUSION

Thus, in patients with LTNHW on a background of DM, despite the diversity of the necrobiotic process, several consistent changes are observed, including an imbalance in T- and B-lymphocyte counts, which may indicate immune system dysfunction. At the same time, under conditions of a decrease in one of the components of the immune system, an increase in the expression of another component of immunity is observed, which occurs to compensate for each other's functions mutually. A significant increase in the cytokines IL-17A and IL-10 manifests an unfavorable prognosis of LTNHW in patients with DM.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Shanmugam VK, Angra D, Rahimi H, McNish S. Vasculitic and autoimmune wounds. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord*. 2017;5(2):280-92. <https://doi.org/10.1016/j.jvsv.2016.09.006>
2. Larouche J, Sheoran S, Maruyama K, Martino MM. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2018;7(7):209-31. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0761>
3. Strang H, Kaul A, Parikh U, Masri L, Saravanan S, Li H, et al. Role of cytokines and chemokines in wound healing. In: *Wound Healing, Tissue Repair, and Regeneration in Diabetes*; Bagchi D, Das A, Roy S, Eds. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands; 2020; pp. 197-235.
4. Piipponen M, Li D, Landén NX. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):8790. <https://doi.org/10.3390/ijms21228790>

## REFERENCES

5. Li D, Peng H, Qu L, Sommar P, Wang A, Chu T, et al. MiR-19a/b and miR-20a promote wound healing by regulating the inflammatory response of keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2021;141(3):659-71. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.06.037>
6. Yuan L, Sun Y, Xu M, Zeng F, Xiong X. MiR-203 acts as an inhibitor for epithelial-mesenchymal transition process in diabetic foot ulcers via targeting interleukin-8. *Neuroimmunomodulation*. 2019;26(5):239-49. <https://doi.org/10.1159/000503087>
7. Wu J, Li X, Li D, Ren X, Li Y, Herter EK, et al. MicroRNA-34 family enhances wound inflammation by targeting LGR4. *J Invest Dermatol*. 2020;140(2):465-76.e11. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.07.694>

8. Huang YZ, Gou M, Da LC, Zhang WQ, Xie HQ. Mesenchymal stem cells for chronic wound healing: Current status of preclinical and clinical studies. *Tissue Eng Part B Rev.* 2020;26(6):555-70. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2019.0351>
9. Petrov RV, Dozmorov IM, Zadorozhnyi SI, Orlov EV. Vzaimodeistvie limfotsitov cheloveka s krovetvornymi stvolovymi kletkami myshi [Interaction of human lymphocytes with mouse hematopoietic stem cells]. *Dokl Akad Nauk SSSR.* 1987;296(1):246-8.
10. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1968;97:7.
11. Garib FY, Rizopulu AP. T-Regulatory cells as part of strategy of immune evasion by pathogens. *Biochemistry (Moscow).* 2015;80(8):957-71. <https://doi.org/10.1134/S0006297915080015>
12. Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics.* 2020;12(8):735. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080735>
13. Theocharidis G, Baltzis D, Roustis M, Tellechea A, Dangwal S, Khetani RS, et al. Integrated skin transcriptomics and serum multiplex assays reveal novel mechanisms of wound healing in diabetic foot ulcers. *Diabetes.* 2020;69(10):2157-69. <https://doi.org/10.2337/db20-0188>
14. Sawaya AP, Stone RC, Brooks SR, Pastar I, Jozic I, Hasneen K, et al. Deregulated immune cell recruitment orchestrated by FOXM1 impairs human diabetic wound healing. *Nat Commun.* 2020;11(1):4678. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18276-0>
15. Saito K, Iwata Y, Fukushima H, Watanabe S, Tanaka Y, Hasegawa Y, et al. IL-36 receptor antagonist deficiency resulted in delayed wound healing due to excessive recruitment of immune cells. *Sci Rep.* 2020;10(1):14772. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71256-8>
16. Barros JF, Wacławski I, Peclí C, Borges PA, Georgii JL, Ramos-Junior ES, et al. Role of chemokine receptor CCR4 and regulatory T-cells in wound healing of diabetic mice. *J Invest Dermatol.* 2019;139(5):1161-70. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.10.039>
17. Seraphim PM, Leal EC, Moura J, Gonçalves P, Gonçalves JP, Carvalho E. Lack of lymphocytes impairs macrophage polarization and angiogenesis in diabetic wound healing. *Life Sci.* 2020;254:117813. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117813>
18. Nguyen TT, Ding D, Wolter WR, Pérez RL, Champion MM, Mahasenan KV, et al. Validation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a novel target for treatment of diabetic foot ulcers in humans and discovery of a potent and selective small-molecule MMP-9 inhibitor that accelerates healing. *J Med Chem.* 2018;61(19):8825-37. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01005>
19. Lang J, Yang C, Liu L, Li L, Wu L, Liu Y, et al. High glucose activates ERK1/2 to stabilize AP1 and increase MMP9 expression in diabetic foot ulcers. *Exp Cell Res.* 2021;403(1):112550. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112550>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Арипова Тамара Уктамовна**, академик АН РУз, доктор медицинских наук, профессор, директор Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан

Researcher ID: CDE-3916-2022  
Scopus ID: 57223045214  
ORCID ID: 0000-0001-9783-9600  
E-mail: t.aripova@immuno.uz

**Охунув Алишер Орипович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и детской хирургии, Ташкентская медицинская академия

Researcher ID: HKO-2361-2023  
Scopus ID: 6508358215  
ORCID ID: 0000-0003-3622-6805  
SPIN-код: 2943-1604  
Author ID: 989103  
E-mail: general-surgery@mail.ru

**Умаров Бахтиёржон Ятгарович**, PhD, директор Национального детского медицинского центра

Researcher ID: LUY-9203-2024  
Scopus ID: 57254991600  
ORCID ID: 0000-0001-9173-2028  
E-mail: bakhtiyorumarov@mail.ru

**Хамдамов Бахтияр Зарифович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской и госпитальной хирургии, Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али ибн Сино

Scopus ID: 57221665311  
ORCID ID: 0000-0003-3569-6688  
Author ID: 57221665311  
E-mail: dr.hamdamov@mail.ru

**Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов:**

Работа выполнялась в соответствии с планом НИР Ташкентской медицинской академии (номер государственной регистрации 142001/20018). Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали

**Конфликт интересов:** отсутствует

## AUTHORS' INFORMATION

**Aripova Tamara Uktamovna**, Academician of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Director, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

Researcher ID: CDE-3916-2022  
Scopus ID: 57223045214  
ORCID ID: 0000-0001-9783-9600  
E-mail: t.aripova@immuno.uz

**Okhunov Alisher Oripovich**, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of General and Pediatric Surgery, Tashkent Medical Academy

Researcher ID: HKO-2361-2023  
Scopus ID: 6508358215  
ORCID ID: 0000-0003-3622-6805  
SPIN: 2943-1604  
Author ID: 989103  
E-mail: general-surgery@mail.ru

**Umarov Bakhtiyorzhon Yatgarovich**, PhD, Director, National Pediatric Medical Center

Researcher ID: LUY-9203-2024  
Scopus ID: 57254991600  
ORCID ID: 0000-0001-9173-2028  
E-mail: bakhtiyorumarov@mail.ru

**Khamdamov Bakhtiyar Zarifovich**, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Faculty and Hospital Surgery, Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino

Scopus ID: 57221665311  
ORCID ID: 0000-0003-3569-6688  
Author ID: 57221665311  
E-mail: dr.hamdamov@mail.ru

**Information about support in the form of grants, equipment, medications**

The research was carried out in accordance with the research plan of Tashkent Medical Academy (state registration number – 142001/20018). The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment

**Conflicts of interest:** The authors have no conflicts of interest

 АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:**Охунув Алишер Орипович**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и детской хирургии, Ташкентская медицинская академия  
100109, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. Фароби, 2  
Тел.: +998 (909) 474568  
E-mail: general-surgery@mail.ru

 ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:**Okhunov Alisher Oripovich**

Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of General and Pediatric Surgery, Tashkent Medical Academy  
100109, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Farobi str., 2  
Tel.: +998 (909) 474568  
E-mail: general-surgery@mail.ru

**ВКЛАД АВТОРОВ**

Разработка концепции и дизайн исследования: АТУ, ОАО  
Сбор материала: УБЯ, ХБЗ  
Статистическая обработка данных: УБЯ, ХБЗ  
Анализ полученных данных: УБЯ  
Подготовка текста: ОАО  
Редактирование: АТУ  
Общая ответственность: ОАО

**AUTHOR CONTRIBUTIONS**

Conception and design: ATU, OAO  
Data collection: UBYa, KhBZ  
Statistical analysis: UBYa, KhBZ  
Analysis and interpretation: UBYa  
Writing the article: OAO  
Critical revision of the article: ATU  
Overall responsibility: OAO

*Поступила* 07.12.24  
*Принята в печать* 27.11.25

*Submitted* 07.12.24  
*Accepted* 27.11.25