

УДК 616.832.9-008.8-07

<https://doi.org/10.23888/HMJ202194597-604>

Методика объективизации характеристики ликвора и примеры ее использования

Н. Е. Сексяев, Ю. В. Каракулова, Д. Ю. Соснин✉

Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера,
Пермь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Соснин Дмитрий Юрьевич, sosnin_dm@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Обоснование. В современных стандартах исследования для характеристики мутных образцов ликвора используется полуколичественная шкала оценки с помощью крестов, однако данный подход является весьма субъективным.

Цель. Разработка простого объективного метода оценки мутности ликвора.

Материалы и методы. Оптимальную длину волны определяли, исследуя оптическую плотность мутных образцов сульфата бария при различных длинах волн на фотометре Stat Fax (Awarenes, США). Стандартизацию мутности осуществляли с использованием шкалы Shank–Hoagland. Референсный диапазон оценивали по результатам 10 измерений 10 образцов визуально неизмененного ликвора. Одновременно оценивали стабильность и воспроизводимость измеряемых показателей.

Результаты. Оптимальным диапазоном длин волн признан диапазон, выделяемый красным светофильтром ($\lambda = 670$ нм). Стабильность показателей ликвора сохраняется в течение 2 часов после его получения. Референсный диапазон для нормальных образцов ликвора не превышает 0,1 ед. мутности по шкале Shank–Hoagland.

Заключение. Представленная методика демонстрирует важность и возможность объективизации характеристики свойств ликвора при использовании предложенного способа.

Ключевые слова: мутность ликвора; химико-микроскопический анализ; спинномозговая жидкость; ликвор

Для цитирования:

Сексяев Н. Е., Каракулова Ю. В., Соснин Д. Ю. Методика объективизации характеристики ликвора и примеры ее использования // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2021. Т. 9, № 4. С. 597–604. <https://doi.org/10.23888/HMJ202194597-604>.

<https://doi.org/10.23888/HMJ202194597-604>

Methods of objectivization of characteristics of cerebrospinal fluid and examples of their use

Nikita E. Seksyayev, Yuliya V. Karakulova, Dmitriy Yu. Sosnin✉

Vagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation

Corresponding author: Dmitriy Yu. Sosnin, sosnin_dm@mail.ru

ABSTRACT

BACKGROUND: In modern research standards, a semi-quantitative evaluation scale with crosses is used to characterize turbid cerebrospinal fluid samples, where the absence of turbidity is evaluated as a clear cerebrospinal fluid (a variant of norm), and turbidity is evaluated, depending on the severity, by a different number of crosses. This approach is highly subjective.

AIM: Development of a simple objective method for assessment of turbidity of the cerebrospinal fluid.

MATERIALS AND METHODS: The optimal wavelength was determined by examination of the optical density of turbid samples of barium sulfate at various wavelengths on Stat Fax photometer (Awarenes, USA). Turbidity was standardized using Shank–Hoagland scale. The reference range was evaluated based on the results of 10 measurements of 10 samples of visually unchanged cerebrospinal fluid. At the same time, the stability and reproducibility of the measured parameters were evaluated.

RESULTS: The optimal wavelength diabase is the range emitted by red light filter ($\lambda = 670$ nm). Stability of cerebrospinal fluid parameters is preserved for 2 hours after its obtaining. The reference range for normal cerebrospinal fluid samples does not exceed 0.1 units of turbidity on Shank–Hoagland scale.

CONCLUSION: The presented methods demonstrate the importance and possibilities of objectivization of characterization of the properties of cerebrospinal fluid with use of the proposed method.

Keywords: *cerebrospinal fluid turbidity; chemical-microscopic analysis; cerebrospinal fluid; liquor*

For citation:

Seksyayev N. E., Karakulova Yu. V., Sosnin D. Yu. Methods of objectivization of characteristics of cerebrospinal fluid and examples of their use. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2021;9(4):597–604. <https://doi.org/10.23888/HMJ202194597-604>.

Обоснование

Лабораторный анализ ликвора является одним из видов химико-микроскопических лабораторных исследований биологических жидкостей. Результаты исследования ликвора широко используются в практике различных лечебных отделений, но наиболее востребованы в неврологии [1–3]. Несмотря на широкое внедрение методик нейровизуализации для диагностики заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) анализ ликвора сохраняет свою актуальность, особенно при инфекционно-воспалительных или метастатических поражениях ЦНС, так как позволяет оперативно уточнить этиологию патологического процесса [4–6]. Использование новых методов лабораторной диагностики, особенно в условиях автоматизации и стандартизации лабораторных исследований позволили значительно оптимизировать деятельность клинико-диагностических лабораторий [7].

Исследование ликвора проводится по стандартному протоколу, используемому при химико-микроскопических исследованиях биологических жидкостей с применением унифицированных методик [1–3]. При исследовании ликвора обязательно оцениваются следующие группы показателей: внешний вид, химический состав, а также данные микроскопического исследования как нативного препарата биологической жидкости, так и окрашенных препаратов ее осадка [3]. При описании внешнего вида ликвора приводится характеристика цвета и мутности ликвора, доставленного в клинико-диагностическую лабораторию (КДЛ), а также цвет и прозрачность надосадочной жидкости после центрифугирования [1, 3].

В современных стандартах исследования для характеристики мутных образцов ликвора используется полуколичественная шкала оценки с помощью крестов, где отсутствие мутности – оценивается как прозрачный ликвор (вариант нормы), а помутнение ранжируется в зависимости от выраженности различным количеством крестов от + до ++++. Следует отметить,

что данный подход является весьма субъективным. Кроме того, в различных источниках для максимальной степени помутнения используется оценка либо +++, либо ++++ [1, 2, 8]. Все это не только увеличивает расхождение при характеристике внешнего вида ликвора, но и затрудняет сравнительную оценку образцов, полученных от различных пациентов, особенно при динамическом наблюдении.

Современные КДЛ располагают разнообразным оборудованием, позволяющим выполнять широкий спектр фотометрических исследований (спектрофотометры, фотометры и др.). Среди них имеются специализированные приборы, использующиеся в том числе и для анализа оптических характеристик мутных растворов (турбидиметрический и нефелометрический анализ) [9, 10]. Однако рутинный анализ мутных и мутноватых растворов во многих КДЛ традиционно выполняется на наиболее доступных фотометрах (КФК, Clima-15, Stat Fax и другие). На этих приборах исследуются результаты не только таких биохимических тестов как тимоловая проба (тимолвероналовая проба), сулемовая проба (проба Заурмана, Гринстедта), цинк-сульфатная проба (проба Кункеля) проба Бурнштейна (бета-липопротеины), но и выполняется измерение концентрации общего белка в моче и ликворе по реакции с 3%-ной сульфосалициловой кислотой [1–3]. Также на них или на их аналогах проводится исследование мутных растворов при определении концентрации калия (тетрафенилборатный метод), концентрации индивидуальных белков, например, иммуноглобулинов, СРБ [2, 9, 10]. Представляется возможным использовать данный подход и при оценке внешнего вида ликвора, в частности его мутности.

Цель. Разработать и выполнить практическую апробацию методики оценки мутности образцов ликвора фотометрическим методом.

Материалы и методы

Разработка методики объективизации оценки мутности ликвора выполнена в два этапа.

Первый этап включал разработку технологии стандартизации оптических характеристик мутного ликвора, при котором бы достигались оптимальные условия измерения оптической плотности мутного раствора (наибольшая чувствительность и воспроизводимость).

Учитывая, что мутность растворов является характеристикой, зависящей от множества факторов [10–12], на этапе стандартизации мутных растворов использовали стандартную взвесь сульфата бария (BaSO_4) [13]. Для его приготовления брали раствор хлорида бария, который готовили путем растворения 1,175 г кристаллогидрата $\text{BaCl}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (квалификации ч.д.а.) в 100 мл дистиллированной воды и 0,1 моль/л раствора серной

кислоты (H_2SO_4 квалификации х.ч.). Для приготовления стандартной суспензии смешивали 3 мл раствора хлорида бария с 0,1 мл серной кислотой в колбе с конечным объемом 100 мл при температуре 10°C . Выбор температуры был обусловлен относительно стандартным размером формирующихся частиц сульфата бария [3, 12].

С целью стандартизации результатов измерений с помощью различных фотометров, калибровка приборов осуществлялась по стандартным растворам взвеси хлорида бария. Для этого, согласно описанию [3] готовили стандартные растворы с известной мутностью по шкале Shank–Hoagland (ед. S–H), предложенную авторами [3, 13] (табл. 1).

Таблица 1. Построение калибровочного графика

№ разведения	Калибровочный раствор суспензии BaSO_4 , мл	0,1 М раствор H_2SO_4 , мл	Единицы помутнения, ед. S–H
1	1,35	4,65	5
2	2,7	3,3	10
3	5,4	0,6	20

Учитывая, что в современных КДЛ практически не применяются спектрофотометры, в которых используется оценка поглощения монохроматического излучения, а подавляющая часть приборов представлена фотометрами (фотоколориметрами), анализирующими полихроматический (немонохроматический) свет, нами проведена оценка стандартной взвеси при различных длинах волн, выделяемых фотометрами: 440 (синий) 490 нм (синефиолетовый); 540 нм (зеленый); 570 нм (желтый); 670 нм (красный). В исследовании применяли фотометр Stat Fax (Awarenes, США), использующий для выделения заданной области длины света оптические фильтры.

Второй этап включал оценку образцов ликвора пациентов с целью определения референсного интервала и оценки стабильности результатов измерений в течение времени хранения материала. На этом этапе использовали обезличенные остатки образцов ликвора и остававшиеся

в КДЛ после выполнения всех необходимых лабораторных исследований. Так как эти биоматериалы были обезличены и подлежат утилизации как отходы класса Б, для их дальнейшего исследования разрешения пациентов не требовалось. Для оценки оптических характеристик биологических жидкостей выполняли измерение их оптической плотности (ОП) в стеклянной кювете с длиной оптического слоя 10 мм при красном светофильтре ($\lambda = 670$ нм) против дистиллированной воды.

Степень помутнения ликвора выражали в единицах мутности Shank–Hoagland (S–H).

Результаты

Результаты измерения 10 стандартных растворов со степенью помутнения, эквивалентной 5 единицам помутнения S–H, представлены в таблице (табл. 2). Наибольшие значения оптической плотности растворов регистрировались при наиболее коротких значениях длин волн

Таблица 2. Характеристика оптической плотности растворов со степенью мутности 5 единиц по S–H

	Светофильтр (длина волны максимального светопропускания)	Результат измерения оптической плотности стандартного раствора (5 единиц S–H)	Коэффициент вариации (CV)
1	315 ± 5 нм	не оценивали	–
2	340 ± 10 нм	не оценивали	–
3	400 ± 5 нм	не оценивали	–
4	440 ± 10 нм	0,743 ± 0,102	13,7
5	490 ± 10 нм	0,531 ± 0,079	14,9
6	540 ± 10 нм	0,302 ± 0,032	10,6
7	590 ± 10 нм	0,211 ± 0,019	9,0
8	670 ± 10 нм	0,143 ± 0,009	6,3

фотометра, однако коэффициент вариации полученных результатов также был наибольшим. Исследование при длинах волн 400 нм и менее на фотометре не использовали из-за низкой интенсивности светового потока, создаваемого в указанном диапазоне длин волн используемого источника питания и значительного поглощения светового потока стеклом, из которого изготовлены кюветы для измерения оптической плотности растворов.

Значения ОП оставались стабильными на протяжении двухчасового интервала наблюдений.

Данный подход реализован в поданной заявке на изобретение «Способ оценки мутности ликвора» (приоритет от 10.06.2021 г.), согласно которому, объективная оценка мутности ликвора осуществляется следующим образом: образец ликвора, доставленный в лабораторию, перемешивают и выполняют измерение его оптической плотности на фотометре (например, КФК-2МП, Россия) в стеклянной кювете с длиной оптического слоя 10 мм при красном светофильтре ($\lambda = 630\text{--}690$ нм) против дистиллированной воды, оптическая плотность которой принята за «0».

Стандартизация результатов оценки мутности осуществляется за счет использования пересчета результатов измерения мутности (оптической плотности) прибора в единицы мутности Shank–Hoagland [13] по стандартному калибровочному графи-

ку, который строится для каждого конкретного прибора [3].

Для построения калибровочного графика используется: стандартный раствор сульфата бария, который готовят путем смешивания двух растворов:

1) Раствор хлорида бария готовят путем растворения 1,175 г хлорида бария ($\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, х.ч. или ч.д.а.) в 50 мл дистиллированной воды и доводят до объема 100 мл водой.

2) Серная кислота (H_2SO_4 х.ч.) 0,1 моль/л.

Суспензию стандартного раствора сульфата бария следует готовить непосредственно перед построением калибровочного графика: 3 мл раствора хлорида бария наливают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки 0,1 моль/л раствором серной кислоты при температуре 10°C (при этой температуре размеры частиц сульфата бария имеют относительно стабильный результат) [3].

Построение калибровочного графика: из стандартного (калибровочного) раствора суспензии сульфата бария (готовят рабочие растворы, оптическая плотность которых соответствуют 5, 10 и 20 единицам мутности по Shank–Hoagland (табл. 1).

Для характеристики референсных значений ликвора здорового человека нами выполнено исследование 10 образцов ликвора, которые были доставлены и проанализированы в КДЛ г. Перми 2016–2019 гг. Образцы ликвора были получены

при люмбальной пункции у пациентов, госпитализированных либо в состоянии комы, либо с неясной неврологической симптоматикой. Каждый образец ликвора исследовали 10 раз. Результаты после статистической обработки $0,031 \pm 0,023$ усл. единиц. Верхняя граница 99% доверительного интервала ($M \pm 3 SD$) исследуемых составила 0,1 единицы S–H.

Таким образом, значения выше 0,1 усл. единиц S–H следует расценивать как патологические, указывающие на повышенную мутность ликвора. Полученные результаты измерения оптических характеристик образцов ликвора характеризовались низкой величиной оптической плотности. Результаты были высоко воспроизводимы ($CV < 5\%$).

Обсуждение

Наиболее воспроизводимые результаты, надежно характеризующие оптические свойства ликвора, получены при исследовании мутных растворов при красном светофилтре. Это согласуется с данными литературы [9–11], регламентирующими исследование оптических характеристик мутных растворов при длинах волн, выделяемых красным светофильтром (тимоловая проба при 630–690 нм) [3], иммунотурбидиметрический анализ иммуноглобулинов и других белков [9].

Предложенный нами способ был апробирован в практике ряда КЛД Пермского края для объективной оценки мутности образцов ликвора [14]. Примеры конкретного использования представлены ниже.

Пример 1

В КДЛ доставлен образец ликвора, полученный при выполнении диагностической люмбальной пункции. Доставленный ликвор визуально прозрачный. При фотометрическом исследовании степень мутности по шкале мутности составила 0,088 ед. S–H, что соответствует результату оценки мутности ликвора здорового человека (нормального ликвора). На другом фотометре результат составил 0,091 ед S–H.

Данный случай иллюстрирует правильные результаты анализа ликвора без

изменений, а также хорошую воспроизводимость результатов оценки мутности с помощью различных фотометров, в единицах S–H в образцах нормального ликвора.

Пример 2

В КДЛ доставлен образец ликвора больного, госпитализированного с клиническими признаками менингита и предварительным диагнозом вторичный (отогенный) менингит. Доставленный ликвор визуальномутный (+++). При фотометрическом исследовании степень мутности по шкале мутности составила 10,4 единиц S–H.

Данный случай иллюстрирует результаты фотометрического анализа визуально измененного ликвора при гнойном воспалении ЦНС.

Пример 3

В КДЛ доставлены образцы ликвора двух больных с клиническими признаками менингита. Оба образца при визуальной оценке были описаны как мутноватые (помутнение на ++). При фотометрической оценке образца 1 мутность составила 2,2 единицы S–H, а при оценке образца 2 – 2,94 единицы S–H, что указывает на большую мутность образца 2. Оценка плеоцитоза подтвердила результаты фотометрической оценки мутности. При подсчете в камере Фукс–Розенталя, в первом образце плеоцитоз составил 348 клеток/3 мкл (96% полинуклеары), а во втором – 624 клеток/3 мкл (92% полинуклеары).

Данный случай иллюстрирует возможность объективной оценки мутности разных образцов ликвора, описанных при визуальном осмотре одинаково.

Пример 4

В КДЛ доставлен образец ликвора больного, госпитализированного после черепно-мозговой травмы с клиническими признаками менингеального синдрома. При визуальной оценке ликвор мутноватый (++) , без примеси эритроцитов. При фотометрическом способе исследования мутность образца составила 1,9 единицы S–H, что превышает нормальные значения. При повторном осмотре

через 2 дня состояние пациента ухудшилось. Выполнена повторная пункция. При визуальной оценке ликвор мутноватый (++) , без примеси эритроцитов. При фотометрическом способе исследования мутность образца составила 3,5 единицы S–H, что соответствует значениям, превышающим норму, а также результат предыдущих исследований.

Полученные результаты оценки мутности ликвора в динамике с применением

фотометрического способа и стандартизации результатов исследования в единицах мутности Shank–Hoagland (ед. S–H) объективно подтверждают отрицательную динамику.

Заключение

Представленная методика демонстрирует важность и возможность объективизации характеристики свойств ликвора при использовании предложенного способа.

Список источников

1. Миронова И.И., Романова Л.А., Долгов В.В. *Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, мокрота*. 2-е изд. М.–Тверь: Триада; 2009.
2. Долгов В.В., ред. *Клиническая лабораторная диагностика: в 2-х т.* М.: Лабдиаг; 2017.
3. Меньшиков В.В., ред. *Лабораторные методы исследования в клинике*. М.: Медицина; 1987.
4. Щёктова А.П., Соснин Д.Ю., Сазонова Н.Г., и др. Диагностика метастатического поражения центральной нервной системы по результатам исследования ликвора // *Справочник заведующего КДЛ*. 2018. № 10. С. 44–48.
5. Ikeguchi R., Shimizu Y., Shimizu S., et al. CSF and clinical data are useful in differentiating CNS inflammatory demyelinating disease from CNS lymphoma // *Multiple Sclerosis*. 2018. Vol. 24, № 9. P. 1212–1223. doi: 10.1177/1352458517717804
6. van Westrhenen A., Smidt L.C.A., Seute T., et al. Diagnostic markers for CNS lymphoma in blood and cerebrospinal fluid: a systematic review // *British Journal of Haematology*. 2018. Vol. 182, № 3. P. 384–403. doi: 10.1111/bjh.15410
7. Пай Г.В. Опыт практического применения полной автоматизации ПЦР-лаборатории на примере многопрофильного стационара ФНКЦ им. Дм. Рогачева // *Лабораторная служба*. 2016. Т. 5, № 3. С. 54–55.
8. Цветанова Е.М. *Ликворология*. Киев: Здоров'я; 1986.
9. Долгов В.В., Ованесов Е.Н., Щетникович К.А. *Фотометрия в лабораторной практике*. СПб.: Витал Диагностика СПб; 2004.
10. Долгов В.В., Шевченко О.П., Шатырев А.А., и др. *Турбидиметрия в лабораторной практике*. М.: Реафарм; 2007.
11. Долгов В.В., ред. *Иммунохимический анализ в лабораторной медицине*. М.–Тверь: Триада; 2015.
12. Saifer A. Protein flocculation reactions; a physicochemical approach // *The American Journal of Medicine* 1952. Vol. 13, № 6. P. 730–743. doi: 10.1016/0002-9343(52)90373-2
13. Shank R.E., Hoagland C.L. A modified method for quantitative determination of thymol turbidity reaction of serum // *The Journal of Biological Chemistry*. 1946. Vol. 162. P. 133–138.
14. Соснин Д.Ю. Каракулова Ю.В., Сексяев Н.Е. Лабораторные показатели исследования ликвора при ВИЧ ассоциированных заболеваниях // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021. Т. 66, № S4. С. 66.

References

1. Mironova II, Romanova LA, Dolgov VV. *Obshcheklinicheskiye issledovaniya: mocha, kal, likvor, mokrota*. 2nd ed. Moscow–Tver': Triada; 2009. (In Russ).
2. Dolgov VV, editor. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: v 2 vol.* Moscow: Labdiag; 2017. (In Russ).
3. Men'shikov BV, editor. *Laboratornyye metody issledovaniya v klinike*. Moscow: Meditsina; 1987. (In Russ).
4. Shchëkotova AP, Sosnin Dy, Sazonova NG, et al. Diagnostika metastaticheskogo porazheniya tsentral'noy nervnoy sistemy po rezul'tatam issledovaniya likvora. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2018;(10):44–8. (In Russ).
5. Ikeguchi R, Shimizu Y, Shimizu S, et al. CSF and clinical data are useful in differentiating CNS inflammatory demyelinating disease from CNS lymphoma. *Multiple Sclerosis*. 2018;24(9):1212–23. Doi: 10.1177/1352458517717804
6. Van Westrhenen A, Smidt LCA, Seute T, et al. Diagnostic markers for CNS lymphoma in blood and cerebrospinal fluid: a systematic review. *British Journal of Haematology*. 2018;182(3):384–403. doi: 10.1111/bjh.15410
7. Pay GV. The practical application complete automatization of PCR laboratory in FRC PHOI n. a. Dmitry Rogachev. *Laboratory Service*. 2016;5(3): 54–5. (In Russ).
8. Tsvetanova EM. *Likvorologiya*. Kiyev: Zdorov'ya; 1986. (In Russ).

9. Dolgov VV, Ovanesov EN, Shchetnikov KA. *Fotometriya v laboratornoy praktike*. Saint-Petersburg: Vital Diagnostiks SPb; 2004. (In Russ).
10. Dolgov VV, Shevchenko OP, Shatyrev AA, et al. *Turbidimetriya v laboratornoy praktike*. Moscow: Reafarm; 2007. (In Russ).
11. Dolgov VV, editor. *Immunokhimicheskiy analiz v laboratornoy meditsine*. Moscow–Tver': Triada; 2015. (In Russ).
12. Saifer A. Protein flocculation reactions; a physico-chemical approach. *The American Journal of Medicine* 1952;13(6):730–43. doi: 10.1016/0002-9343(52)90373-2
13. Shank RE, Hoagland CL. A modified method for quantitative determination of thymol turbidity reaction of serum. *The Journal of Biological Chemistry*. 1946;162:133–8.
14. Sosnin DYU, Karakulova YuV, Seksyayev NE. Laboratornyye pokazateli issledovaniya likvora pri VICH assotsiirovannykh zabolevaniyakh. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2021;66 (S4):66. (In Russ).

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Информация об авторах:

Сексяев Никита Евгеньевич — аспирант кафедры неврологии и медицинской генетики, SPIN: 2057-7412, <https://orcid.org/0000-0001-5088-2855>.

Каракулова Юлия Владимировна — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой неврологии и медицинской генетики, SPIN: 5066-6556, <https://orcid.org/0000-0002-7536-2060>.

✉ *Соснин Дмитрий Юрьевич* — д.м.н., доцент, профессор кафедры факультетской терапии № 2, профпатологии и клинической лабораторной диагностики, SPIN: 4204-6796, <https://orcid.org/0000-0002-1232-8826>, e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Вклад авторов:

Соснин Д. Ю. — концепция и дизайн подготовки публикации.
Сексяев Н. Е., Каракулова Ю. В. — выбор пациента для исследования, сбор материала (образцы ликвора).
Сексяев Н. Е. — написание текста статьи, выполнение экспериментальных исследований *in vitro*.
Каракулова Ю. В. — редактирование текста.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Funding. The study was not sponsored.

Information about the authors:

Nikita E. Seksyayev — PhD student of the Department of Neurology and Medical Genetics, SPIN: 2057-7412, <https://orcid.org/0000-0001-5088-2855>.

Yuliya V. Karakulova — MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Neurology and Medical Genetics, SPIN: 5066-6556, <https://orcid.org/0000-0002-7536-2060>.

✉ *Dmitriy Yu. Sosnin* — MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Faculty Therapy № 2, Occupational Pathology and Clinical Laboratory Diagnostics, SPIN: 4204-6796, <https://orcid.org/0000-0002-1232-8826>, e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Contribution of the authors:

Sosnin D. Yu. — concept and design of publication preparation.
Seksyayev N. E., Karakulova Yu. V. — selection of the patient for research, collecting material (liquor samples).
Seksyayev N. E. — writing the text of the article, performing experimental studies *in vitro*.
Karakulova Yu. V. — text editing.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.