

## Морфологические особенности нейронов теменной коры и гиппокампа крыс после субтотальной церебральной ишемии на фоне введения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, С.М. Зиматкин

*Гродненский государственный медицинский университет  
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80*

### Резюме

Цель исследования – изучить морфологические особенности нейронов теменной коры и гиппокампа крыс с субтотальной церебральной ишемией (СИГМ) на фоне введения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (омега-3 ПНЖК). **Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 24 белых беспородных крысах-самцах. Оперативные вмешательства осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Острую СИГМ моделировали путем двусторонней перевязки общих сонных артерий. Животным основной группы ( $n = 6$ , СИГМ + омега-3 ПНЖК) до ишемии в течение недели вводили внутривенно препарат омега-3 ПНЖК в дозе 5 мг/кг массы тела. В группе сравнения ( $n = 6$ , СИГМ) препарат не использовали, контролем ( $n = 6$ ) служили ложнооперированные животные, которым выполняли разрез кожи без перевязки. Животных декапитировали после 60-минутной ишемии, быстро извлекали головной мозг, кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1%-м толуидиновым синим по методу Ниссля. На срезах изучали морфологические изменения нейронов теменной коры и поля СА1 гиппокампа. **Результаты и их обсуждение.** У животных обеих опытных групп выявили морфофункциональные нарушения в теменной коре и гиппокампе. Значимого влияния на размеры и форму нейронов как теменной коры, так и гиппокампа назначение омега-3 ПНЖК не оказало. В гиппокампе введение препарата омега-3 ПНЖК приводило к уменьшению количества гиперхромных сморщенных нейронов (на 20 %) и увеличению числа гиперхромных (на 31 %). Количество клеток-теней в данном отделе не отличалось от показателей контрольной группы. В теменной коре корригирующего эффекта отмечено не было. **Заключение.** СИГМ приводит к развитию морфофункциональных нарушений коры головного мозга. Введение омега-3 ПНЖК оказывает положительный эффект на состояние нейронов гиппокампа крыс, снижая количество их дегенеративных форм. Полученные данные могут служить основой для поиска новых подходов к терапии острого ишемического инсульта – одной из актуальных проблем неврологии.

**Ключевые слова:** церебральная ишемия, неокортекс, гиппокамп, нейроны, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Автор для переписки:** Бонь Е.И., e-mail: asphodela@list.ru

**Для цитирования:** Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические особенности нейронов теменной коры и гиппокампа крыс после субтотальной церебральной ишемии на фоне введения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (3): 34–40. doi: 10.15372/SSMJ20200305

## Morphological features of parietal cortex and hippocampus neuron of rats following subtotal cerebral ischemia associated with omega-3 polyunsaturated fatty acids injection

E.I. Bon, N.Ye. Maksimovich, S.M. Zimatkin

*Grodno State Medical University  
Republic Belarus, 230009, Grodno, Gorkogo str., 80*

## Abstract

Aim of the study was to investigate the morphological features of neurons of the parietal cortex and hippocampus of rats with subtotal cerebral ischemia (SACI) during administration of omega-3 polyunsaturated fatty acids (omega-3 PUFA). **Materials and methods.** The experiments were performed on 24 white outbred male rats. Surgical interventions were carried out under conditions of intravenous thiopental anesthesia (40–50 mg/kg). Acute SACI was modeled by bilateral ligation of the common carotid arteries. The animals of the main group ( $n = 6$ , SACI + omega-3 PUFA) received intragastric injections of omega-3 PUFA preparation at a dose of 5 mg/kg body weight prior to ischemia for a week. In the comparison group ( $n = 6$ , SACI), the drug was not used; the control ( $n = 6$ ) was sham operated animals, which were incised without skin ligation. Animals were decapitated after 60 minutes of ischemia. In rats, morphological changes in the neurons of the parietal cortex and the CA1 field of the hippocampus were studied. For morphometric and histochemical studies, animals were quickly removed after decapitation of the brain, pieces of the anterior cortex of the cerebral hemispheres were fixed in Carnoy fluid. Serial paraffin sections were stained with 0.1 % toluidine blue according to the Nissl method. Statistical hypothesis testing was performed using the Kruskal-Wallis ANOVA test. **Results and discussion.** The morphological and functional disorders in the parietal cortex and hippocampus have been revealed in animals of both experimental groups. The appointment of omega-3 did not significantly affect the size and shape of neurons in both the parietal cortex and the hippocampus. In the hippocampus, the administration of omega-3 polyunsaturated fatty acids resulted in a decrease in the number of hyperchromic shriveled neurons (by 20%) and an increase in hyperchromic neurons by 31 %. The number of shadow cells in this section did not differ from the indices of the control group. In the parietal cortex, no corrective effect was noted. **Conclusions.** Thus, subtotal cerebral ischemia leads to the development of morphofunctional disorders of the cerebral cortex. Administration of omega-3 had a positive effect on the state of rat hippocampal neurons, reducing the number of degenerative forms of neurons. The data obtained can serve as the basis for the search for new approaches to the treatment of acute ischemic stroke, which is one of the urgent problems of experimental and clinical neurology.

**Key words:** cerebral ischemia, neocortex, hippocampus, neurons, omega-3 polyunsaturated fatty acids.

**Conflict of interest.** Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

**Correspondence author:** Bon E.I., e-mail: asphodela@list.ru

**Citation:** Bon E.I., Maksimovich N. Ye., Zimatkin S.M. Morphological features of parietal cortex and hippocampus neuron of rats following subtotal cerebral ischemia associated with omega-3 polyunsaturated fatty acids injection. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (3): 34–40 [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200305

## Введение

Острые нарушения мозгового кровообращения – одна из наиболее актуальных проблем в современной медицине. Частота инсультов колеблется в различных регионах мира от 1 до 4 случаев на 1000 населения в год, значительно увеличиваясь с возрастом [1, 2]. Цереброваскулярные заболевания ишемического генеза имеют тенденцию к росту, омоложению, сопряжены с тяжелым клиническим течением, высокими показателями инвалидности и смертности. Актуальность проблемы цереброваскулярных заболеваний можно с полным основанием определить как чрезвычайную, требующую концентрации усилий специалистов разных профилей для ее решения [1–3]. Поиск новых подходов к терапии острого ишемического инсульта является одной из актуальных проблем экспериментальной и клинической неврологии.

Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3 ПНЖК) осуществляют контроль над работой иммунной и репродуктивной систем, являясь предшественниками биосинтеза простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов и дру-

гих цитокинов [4]. Важная роль омега-3 ПНЖК состоит в обеспечении функционирования клеточных мембран, трансмембранных ионных каналов и регуляции физиологических процессов путем синтеза липидных медиаторов, которые, встраиваясь в фосфолипидный слой клеточных мембран, влияют на их текучесть. Омега-3 ПНЖК участвуют в реализации основных функций нейронов, таких как передача импульсов и работа рецепторов. Нейроны головного мозга, являясь электрически активными клетками, богатыми ионными каналами, наиболее чувствительны к дефициту полиненасыщенных жирных кислот [5, 6].

Цель исследования – изучение морфологических особенностей нейронов теменной коры и гиппокампа крыс после субтотальной церебральной ишемии на фоне введения омега-3 ПНЖК.

## Материал и методы

Эксперименты проведены на 18 самцах беспородных белых крыс массой  $210 \pm 20$  г. В ходе исследования соблюдались все требования Директивы Европейского парламента и Совета

Европейского Союза 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Крыс содержали в проветриваемом помещении при температуре 22 °С, достаточном освещении, на стандартном рационе вивария, со свободным доступом к корму и воде. В одной клетке находилось не более пяти особей [7].

Контрольную группу составили ложнооперированные крысы ( $n = 6$ ). Субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) моделировали путем перевязки обеих общих сонных артерий в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Крысам основной группы ( $n = 6$ , СИГМ + омега-3 ПНЖК) до перевязки общих сонных артерий в течение недели внутривенно давали препарат омега-3 ПНЖК в дозе 5 мг/кг массы тела. В группе сравнения ( $n = 6$ , СИГМ) профилактическое введение препарата не проводили. Животных декапитировали после 60-минутной ишемии.

У крыс изучали морфологические изменения нейронов теменной коры и поля СА1 гиппокампа. Для морфометрического исследования после декапитации быстро извлекали головной мозг; кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1%-м толуидиновым синим по методу Ниссля. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию и денситометрию осадка хромогена в гистологических препаратах проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss AG, ФРГ), цифровой видеокамеры (LeicaDFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Локализацию теменной коры и гиппокампа в гистологических препаратах мозга крыс определяли с помощью стереотаксического атласа [8]. У каждого животного оценивали не менее 30 нейронов пятого слоя парietальной коры и пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа (всего по 180 нейронов на группу). Определяли общую численную плотность (на 1 мм<sup>2</sup>) больших пирамидных нейронов теменной коры и гиппокампа. Среди них различали клетки по интенсивности окраски цитоплазмы (хроматофилии): нормохромные – умеренно окрашенные, гиперхромные – темные, гиперхромные сморщенные – очень темные, с деформированными перикарионами, гипохромные – светло окрашенные и клетки-тени – почти прозрачные. Количество клеток каждого типа подсчитывали на 1 мм<sup>2</sup> ткани мозга. Для изучения размеров и формы перикарионов нейронов с помощью программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США)

измеряли их площадь, форм-фактор (параметр сферичности и складчатости, рассчитывается как  $4\pi S/P^2$ , где  $S$  – площадь,  $P$  – периметр клетки) и фактор элонгации (параметр сферичности, рассчитывается как отношение максимального диаметра клетки к минимальному).

Для статистического анализа полученных в эксперименте данных использовали методы непараметрической статистики. Для каждого показателя определяли 25-ю, 50-ю и 75-ю процентиля. Количественные результаты представлены в виде  $Me$  (LQ; UQ), где  $Me$  – медиана, LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль. Статистически значимыми различия между группами считали при уровне  $p < 0,05$  (критерии Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса) [9].

## Результаты и их обсуждение

При морфометрии нейронов теменной коры и гиппокампа в группе сравнения выявлено значительное уменьшение площади их перикарионов – на 53 % ( $p < 0,05$ ) и 49 % ( $p < 0,05$ ), увеличивалась вытянутость тел нейронов на 20 % ( $p < 0,05$ ) в каждом из изучаемых отделов коры, уменьшалась их округлость на 11 % ( $p < 0,05$ ) и 22 % ( $p < 0,05$ ) соответственно (табл. 1). Предполагается, что данные изменения размеров и формы нейронов обусловлены водно-электролитными нарушениями, а также денатурацией белка. Назначение омега-3 ПНЖК не влияло статистически значимо на площадь и форму нейронов ( $p > 0,05$ ).

У животных группы сравнения отмечалось уменьшение количества нормохромных нейронов и увеличение количества гиперхромных нейронов, а также дегенеративных форм – гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней как в теменной коре, так и в гиппокампе (табл. 2, рисунок) по сравнению с показателями в контрольной группе: в теменной коре – на 79 % ( $p < 0,05$ ), на 80 % ( $p < 0,05$ ) и на 67 % ( $p < 0,05$ ), в гиппокампе – на 77 % ( $p < 0,05$ ), на 80 % ( $p < 0,05$ ) и на 67 % ( $p < 0,05$ ) соответственно. У животных основной группы по сравнению с контролем в гиппокампе повышалось количество гиперхромных сморщенных нейронов (на 75 %,  $p < 0,05$ ) и гиперхромных нейронов (на 84 %,  $p < 0,05$ ), по сравнению с группой без лечения уменьшалось число гиперхромных сморщенных нейронов (на 20 %,  $p < 0,05$ ) и возрастало количество гиперхромных нейронов (на 31 %,  $p < 0,05$ ). Количество клеток-теней в гиппокампе крыс основной и контрольной групп не различалось ( $p < 0,05$ ).

По данным литературных источников, при СИГМ в теменной коре происходят существен-

Таблица 1. Размеры и форма перикарионов нейронов

Table 1. Size and shape of neuron pericarion

Показатель	Контроль		СИГМ		СИГМ + омега-3 ПНЖК	
	Теменная кора	Гиппокамп	Теменная кора	Гиппокамп	Теменная кора	Гиппокамп
Площадь, мкм <sup>2</sup>	145 (130; 154)	109 (100; 122)	69 (67; 74)*	56 (55; 57)*	68 (50; 84)*	58 (53; 84)*
Форм-фактор, ед.	0,9 (0,9; 0,9)	0,9 (0,9; 0,9)	0,8 (0,8; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,8)*	0,8 (0,6; 0,8)*
Фактор элонгации, ед.	1,2 (1,1; 1,3)	1,2 (1,1; 1,3)	1,5 (1,4; 1,5)*	1,5 (1,4; 1,6)*	1,4 (1,4; 1,5)*	1,4 (1,4; 1,4)*

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при  $p < 0,05$ .

Таблица 2. Численная плотность нейронов в зависимости от хроматофилии

Table 2. Numerical density of neurons depending on colouring

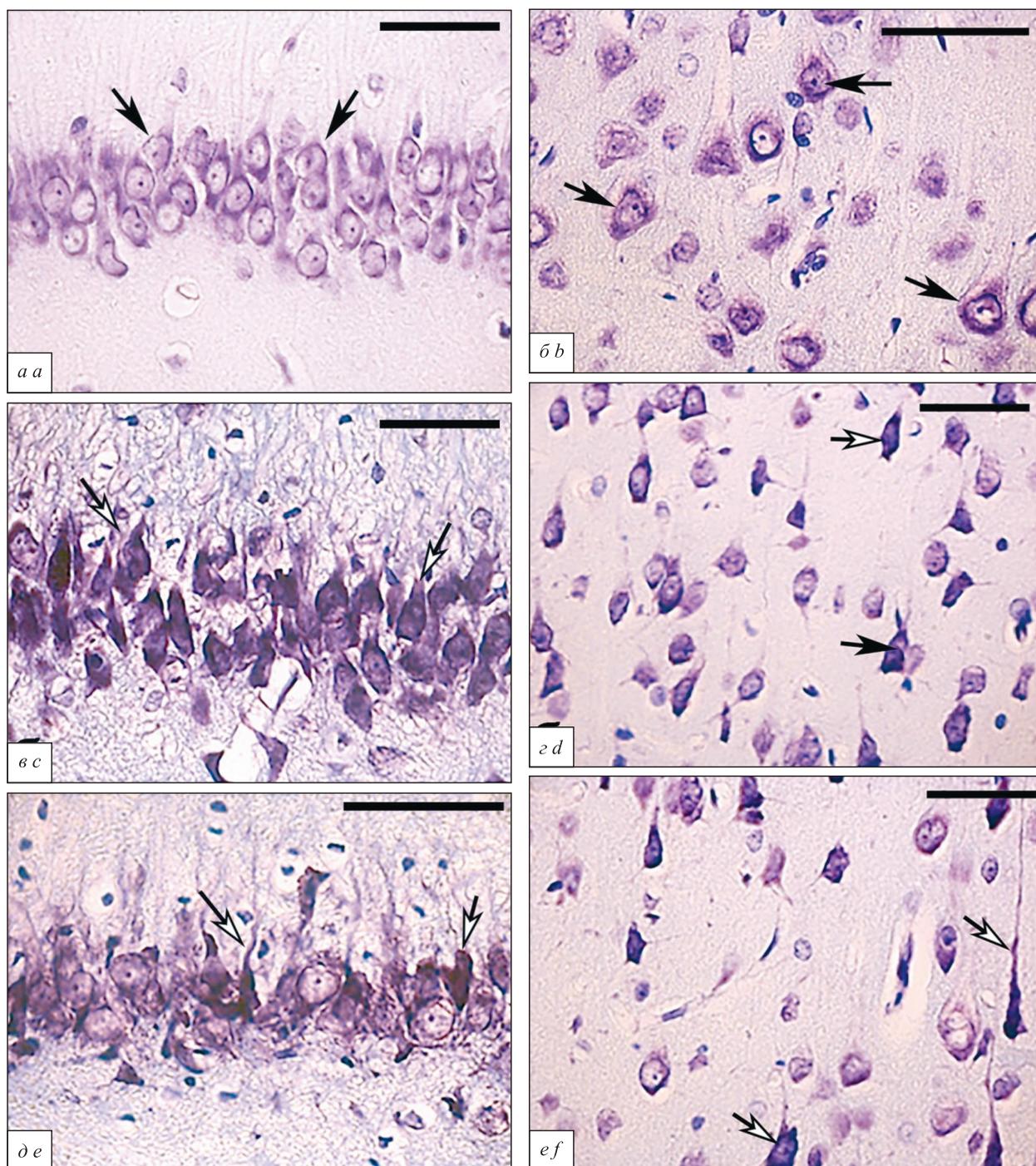
Тип нейронов	Контроль		СИГМ		СИГМ + омега-3 ПНЖК	
	Теменная кора	Гиппокамп	Теменная кора	Гиппокамп	Теменная кора	Гиппокамп
Нормохромные	3208 (3178; 3245)	3003 (2989; 1945)	1932 (1920; 1945)*	2062 (2009; 2298)*	2143 (1942; 2143)*	2052 (2001; 2167)*
Гиперхромные	201 (201; 268)	167 (134; 201)	938 (804; 938)*	737 (670; 938)*	1072 (804; 1072)*	1072 (1072; 1140)+
Гиперхромные сморщенные	134 (67; 134)	134 (0; 134)	670 (670; 670)*	670 (670; 670)*	603 (536; 670)*	536 (536; 536)+
Гипохромные	335 (268; 335)	201 (134; 268)	368 (335; 402)	368 (268; 469)	269 (269; 404)	404 (404; 404)
Клетки-тени	134 (0; 134)	134 (134; 134)	404 (269; 404)*	402 (269; 402)*	269 (269; 269)*	134 (134; 269)

Примечание. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: \* – контроля, + – группы «СИГМ».

ные морфологические изменения – уменьшение размеров и деформация перикарионов нейронов, появление большого количества гиперхромных нейронов, которые часто расцениваются в качестве маркеров ишемии [10–12]. Интенсивная окраска их цитоплазмы обусловлена существенным преобладанием доли свободных рибосом, образующих обширные скопления. Фиксация рибосом к мембранам гранулярной эндоплазматической сети является энергозависимым процессом, обеспечиваемым рибофорином, и дегрануляция цистерн гранулярной эндоплазматической сети свидетельствует о нарастающем энергодефиците. Дегенеративные изменения гранулярной эндоплазматической сети приводит к накоплению синтезированных белков в цитоплазме. Под воздействием развивающейся гипоксии и ацидоза нарастает их денатурация. Сморщивание гиперхромных нейронов происходит вследствие потери воды из-за энергетических и ионных нарушений, которые об-

условливают уменьшение размеров и деформацию перикарионов. Сморщенные нейроны утрачивают функциональную активность и в последующем фагоцитируются микроглией [10, 13, 14].

Благоприятный эффект ПНЖК на состояние нейронов гиппокампа в условиях СИГМ может быть связан с уменьшением выработки тромбоксана А<sub>2</sub> тромбоцитами, увеличением уровня тканевого активатора плазминогена и улучшением текучести оболочки эритроцитов, что приводит к уменьшению вязкости, улучшению реологических свойств крови и мозгового кровообращения. Омега-3 ПНЖК также обладают противовоспалительным действием за счет встраивания в фосфолипидный слой клеточных мембран моноцитов, лейкоцитов, эндотелиальных клеток, что сопровождается уменьшением выработки медиаторов воспаления и адгезии лейкоцитов к эндотелиальной стенке. Кроме того, ПНЖК влияют на синтез простагландинов, регулирующих сосудистый



**Рис.** Нейроны пирамидного слоя CA1 гиппокампа (а, в, г) и теменной коры (б, г, е): контроль (а, б), СИГМ (в, г), СИГМ + омега-3 (д, е). Черные стрелки – нормохромные нейроны, белые стрелки – гиперхромные сморщенные нейроны. Окраска по Нислю, шкала – 50 мкм

**Fig.** Neurons of the pyramidal layer CA1 of hippocampus (a, c, e) and parietal cortex (b, d, f): control (a, b), SCI (c, d), SCI + omega-3 PUFA (e, f). Black arrows indicates normochromic neurons, white arrows indicates hyperchromic shrunken neurons. Nissl staining, scale 50 μm

тонус и препятствующих вазоконстрикции под влиянием катехоламинов, что обуславливает умеренный гипотензивный эффект [4–6]. Нейроны гиппокампа, как филогенетически более древнего отдела коры, менее чувствительны к гипоксии,

и поэтому именно в данном отделе головного мозга омега-3 ПНЖК оказали некоторое корректирующее действие (уменьшение количества патологических форм нейронов – гиперхромных сморщенных и клеток-теней).

## Заключение

Таким образом, СИГМ приводит к развитию морфофункциональных нарушений коры головного мозга. Введение омега-3 ПНЖК положительно влияет на состояние нейронов гиппокампа крыс, снижая количество дегенеративных форм нейронов. Полученные данные могут служить основой для поиска новых подходов к терапии острого ишемического инсульта, что является одной из актуальных проблем неврологии.

## Список литературы / References

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга. *Биомедицина*. 2018; 14 (2): 59–71.
2. Bon E.I., Maksimovich N.Ye. Methods of modeling morphological and functional markers of cerebral ischemia. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2018; 14 (2): 59–71. [In Russian].
3. Bon L.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons. *Bioprocess Engineering*. 2018; 2 (1): 1–5. doi: 10.11648/j.be.20180201.11
4. Clemens J.A. Cerebral ischemia: gene activation, neuronal injury, and the protective role of antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28: 1526–1531. doi: 10.1016/s0891-5849(00)00258-6
5. Wu B., Song Q., Zhang Y., Wang C., Yang M., Zhang J., Han W., Jiang P. Antidepressant activity of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids in ovariectomized rats: role of neuroinflammation and microglial polarization. *Lipids Health Dis.* 2020; 19 (1): 4–8. doi: 10.1186/s12944-020-1185-2
6. Kaliannan K., Li X.Y., Wang B., Pan Q., Chen C.Y., Hao L., Xie S., Kang J.X. Multi-omic analysis in transgenic mice implicates omega-6/omega-3 fatty acid imbalance as a risk factor for chronic disease. *Commun. Biol.* 2019; 2 (1): 276–280. doi: 10.1038/s42003-019-0521-4
7. Khunt D., Shrivastava M., Polaka S., Gondaliya P., Misra M. Role of omega-3 fatty acids and butter oil in targeting delivery of donepezil hydrochloride microemulsion to brain via the intranasal route: a comparative study. *AAPS PharmSciTech.* 2020; 21 (2): 45–50. doi: 10.1208/s12249-019-1585-7
8. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. Ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010. 241 с.
9. Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research. Eds. N.N. Karkishchenko, S.V. Gracheva. Moscow: Profil-2S, 2010. 241 p. [In Russian].
10. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, 1998. 242 p.
11. Батин Н.В. Компьютерный статистический анализ данных: учеб.-метод. пособие. Минск: Институт подготовки научных кадров Национальной академии наук Беларуси, 2008. 235 с.
12. Batin N.V. Computer statistical data analysis. Minsk, 2008. 235 p. [In Russian].
13. Зиматкин С.М., Бонь Е.И. Темные нейроны мозга. *Морфология*. 2017; (6): 81–86.
14. Zimatkin S.M., Bon E.I. Dark neurons in the brain. *Morfologiya = Morphology*. 2017; (6): 81–86. [In Russian].
15. Мартынова О.В., Тверской А.В., Покровский М.В., Мартынов М.А., Шкилева И.Ю., Шелякина Е.В., Анциферов О.В., Мухина Т.С. Морфологические изменения нейронов головного мозга крыс при двух-, четырехсосудистой моделях ишемического повреждения головного мозга крыс и их коррекция тадалафилом в эксперименте. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2016; (6): 56–61.
16. Martynova O.V., Tverskoy A.V., Pokrovsky M.V., Martynov M.A., Shkileva I.Yu., Shelyakina E.V., Antsiferov O.V., Mukhina T.S. Morphological changes in rat brain neurons in two-, four-vascular models of ischemic damage to rat brain and their correction with tadalafil in the experiment. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2016; (6): 56–61. [In Russian].
17. Рузан Т.А., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфофункциональные изменения нейронов фронтальной коры головного мозга в условиях его ишемии-реперфузии. *Журн. Гродненск. гос. мед. ун-та*. 2012; (4): 35–38.
18. Rukan T.A., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M. Morphofunctional changes in the neurons of the frontal cortex of the brain under conditions of its ischemia-reperfusion. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2012; (4): 35–38. [In Russian].
19. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. Омск, 1999. 446 с.
20. Semchenko V.V., Stepanov S.S., Alekseeva G.V. Postanoxic encephalopathy. Omsk, 1999. 446 p. [In Russian].
21. Gallyas F., Pal J., Bukovics P. Supravital microwave experiments support that the formation of «dark» neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system. *Brain Res.* 2009; 1270: 152–156. doi: 10.1016/j.brainres.2009.03.020

**Информация об авторах:**

**Елизавета Игоревна Бонь**, к.б.н., e-mail: asphodela@list.ru

**Наталья Евгеньевна Максимович**, д.м.н., проф., e-mail: mne@grsmu.by

**Сергей Михайлович Зиматкин**, д.б.н., проф., e-mail: smzimatkin@mail.ru

**Information about the authors:**

**Elizaveta I. Bon**, candidate of biological science, e-mail: asphodela@list.ru

**Natalia Ye. Maksimovich**, doctor of medical science, professor, e-mail: mne@grsmu.by

**Sergey M. Zimatkin**, doctor of biological science, professor, e-mail: smzimatkin@mail.ru

*Поступила в редакцию* 16.01.2020

*После доработки* 02.03.2020

*Принята к публикации* 20.04.2020

*Received* 16.01.2020

*Revision received* 02.03.2020

*Accepted* 20.04.2020