

Морфофункциональная характеристика печени после введения аскорбиновой кислоты в модели лучевого гепатита

Г.А. Демяшкин^{1,2} ✉, В.А. Якименко², М.А. Вадюхин², А.А. Китиева², Н.В. Васильева²

¹ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Обнинск, Россия

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация. Введение. Лучевой гепатит развивается как при непосредственном облучении злокачественных новообразований печени, так и органов брюшной полости. Важной задачей современной радиобиологии является разработка методов профилактики острых и хронических постлучевых осложнений, например, введением протекторов. **Материалы и методы.** Крысы породы Вистар ($n = 40$) были поделены на группы: I – контрольная ($n = 10$); II ($n = 10$) – облучение электронами; III ($n = 10$) – введение аскорбиновой кислоты до облучения электронами; IV ($n = 10$) – введение аскорбиновой кислоты. Проводили биохимический анализ крови, анализ оксидантного статуса, морфологическое, морфометрическое и статистическое исследования. **Результаты.** В III группе отмечали менее выраженное изменение основных морфологических и морфометрических показателей по сравнению со II группой; показатели биохимического анализа и оксидантного статуса приближались к контрольным значениям. **Выводы.** По результатам проведенного исследования выявили, что локальное облучение электронами через неделю приводит к нарушению гистоархитектоники печени, а введение аскорбиновой кислоты снижает глубину и диапазон постлучевого гепатита.

Ключевые слова: лучевой гепатит, облучение электронами, гепатоцит, аскорбиновая кислота, радиопротекторы

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

Morphofunctional characteristics of the liver after administration of ascorbic acid in a model of radiation hepatitis

G.A. Demyashkin^{1,2} ✉, V.A. Yakimenko², M.A. Vadyukhin², A.A. Kitieva², N.V. Vasilyeva²

¹ National Medical Research Center of Radiology, Obninsk, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract. Introduction: Radiation-induced hepatitis develops both with direct irradiation of malignant neoplasms of the liver and abdominal organs. An important task of modern radiobiology is the development of methods for the prevention of acute and chronic post-radiation complications, for example, the injections of protectors. **Materials and methods:** Wistar rats ($n = 40$) were divided into groups: I – control ($n = 10$); II ($n = 10$) – electron irradiation; III ($n = 10$) – injection of ascorbic acid before electron irradiation; IV ($n = 10$) – injection of ascorbic acid. A biochemical blood test, oxidative status analysis, morphological, morphometric and statistical studies were carried out. Results: In group III, a less pronounced change in the main morphological and morphometric parameters was noted compared to group II; indicators of biochemical analysis and oxidative status approached control values. **Conclusions:** According to the results of the study, it was revealed that local irradiation with electrons after a week leads to disruption of the histoarchitecture of the liver, and the injection of ascorbic acid reduces the depth and range of radiation-induced hepatitis.

Keywords: radiation-induced hepatitis, electron irradiation, hepatocyte, ascorbic acid, radioprotectors

Лучевой гепатит развивается как при непосредственном облучении злокачественных новообразований печени, так и органов брюшной полости. Кроме того, радиационно-индуцированная дисфункция печени может развиваться при воздействии радиации на организм человека вследствие техногенных катастроф. Контроль радиоактивности регламентируется множеством документов, однако меры профилактики и лечения острой и хронической лучевой болезни еще нуждаются в уточнении и оптимизации [1, 2].

В некоторых исследованиях продемонстрировано изменение гистоархитектоники печени при использовании X- или γ -облучения. Воздействие γ -излучения в дозе 30 Гр в 5–10 % случаев приводит к поражению печени, а увеличение дозы до 43 Гр – в 50 % случаев. Эффективной при радиотерапии рака печени считается доза выше 60 Гр, однако она увеличивает риск летальности до 76 % из-за постлучевой печеночной недостаточности. К настоящему времени не существует эффективного лечения лучевого гепатита, который

приводит к необратимой печеночной недостаточности и смерти [3]. Однократное X-облучение уже в дозе 8 Гр приводит к отеку гепатоцитов, множественным геморрагиям и застою синусоидов [3]. В другом исследовании, воздействие однократного общего γ -облучения даже в низкой дозе (4 Гр) вызывало повреждения на клеточном и субклеточном уровнях: разрушение структуры ДНК и митохондрий, приводящее к апоптозу гепатоцитов [4].

Исследования воздействия электронов на печень в современной специализированной литературе единичны, а их результаты, как правило, противоречивы. Необходимо проведение комплексной морфофункциональной оценки изменений паренхимы печени с выявлением степени сенсбилизации гепатоцитов к ИИ вне опухоли, а также при облучении злокачественных новообразований соседних органов. Не менее важной задачей современной радиобиологии является разработка методов профилактики острых и хронических постлучевых осложнений, например, введение протекторов и др.

Известно, что эффекты ионизирующего излучения опосредованы прямым (разрывы и сшивки ДНК) и косвенным (оксидативный стресс) путями [5]. При разработке методов профилактики лучевой болезни точкой приложения протекторных средств являются именно косвенные эффекты: антиоксиданты наиболее выражено снижают концентрацию свободных радикалов, способных повреждать органы и ткани локально или системно (при распространении в кровотоке) [6]. В качестве препарата, снижающего степень лучевого гепатита и печеночной недостаточности, была выбрана аскорбиновая кислота, обладающая доказанным антиоксидантным свойством [7].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Морфологическая оценка печени после введения аскорбиновой кислоты в модели лучевого гепатита.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Крысы породы Вистар (*Rattus Wistar*; $n = 40$) были поделены на четыре экспериментальные группы:

- I – контрольная ($n = 10$), которым вводили раствор NaCl 0,9%-й;

- II ($n = 10$) – фракционное локальное облучение электронами в суммарной облучающей дозе (СОД) 30 Гр;

- III ($n = 10$) – интраперитонеальное введение аскорбиновой кислоты в дозе 50 мг/кг за 1 ч до локального облучения электронами в СОД 30 Гр;

- IV ($n = 10$) – интраперитонеальное введение аскорбиновой кислоты в дозе 50 мг/кг.

Локальное облучение электронами животных проводили на линейном акселераторе NOVAC-11. Животных всех групп (I–IV) выводили из эксперимента путем введения высоких доз анестетика через неделю после последней фракции. Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Биохимический анализ сыворотки крови. В крови, полученной от животных, измеряли уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и общего билирубина при помощи биохимического анализатора.

Исследование маркеров оксидативного стресса. Ткани печени (200 мг) гомогенизировали и центрифугировали в течение 5 мин при 1000 g на ледяной бане для получения 10%-го гомогената. Гомогенат подвергали центрифугированию, производили забор супернатанта для дальнейшего анализа. Уровни малонового диальдегида (MDA) и супероксиддисмутазы (SOD) были анализированы в соответствии с требованиями набора ELISA kit (Lifespan Biosciences, USA).

Гистологическое исследование. Фрагменты печени фиксировали в растворе забуференного формалина, после проводки в автоматическом режиме заливали в парафиновые блоки, готовили серийные срезы (толщиной 2 мкм), депарафинировали, дегидратировали и окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические микропрепараты изучали под микроскопом Leica DM2000 с микрофотосъемкой. Использовали установленные гистологические критерии для оценки степени повреждения печени в баллах [8] (табл. 1).

Морфометрическое исследование. Морфометрический анализ проводили в 10 случайно выбранных полях зрения микроскопа при увеличении $\times 400$ в 5 рандомных срезах с каждого образца с использованием анализатора изображений Leica Application Suite (LAS) Version 4.9.0 и компьютерной программы Image J. При этом рассчитывали следующие параметры: объемную плотность гепатоцитов, средний диаметр гепатоцита (в мкм), средний диаметр центральной вены (в мкм), количество клеток Купфера (в 1 см²).

Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). Данные выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение. Сравнения проводились с использованием дисперсионного анализа. Проведен анализ с использованием теста Крускал – Уоллиса и *U*-теста Манна – Уитни. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Таблица 1

Индекс гистологической активности для оценки фрагментов печени (по Knodell с изм.)

I	Перипортальный ± мостовидный некроз	Балл	II	Дистрофия, атрофия, некроз гепатоцитов	Балл	III	Инфильтрация портальных трактов	Балл	IV	Фиброз	Балл
A	нет	0	A	нет	0	A	нет портального воспаления	0	A	нет	0
B	слабый некроз	1	B	слабая (ацидофильные тельца, баллонная дистрофия, фокальные некрозы гепатоцитов менее чем в 1/3 печеночных долек)	1	B	слабая (распределение воспалительных клеток менее чем в 1/3 портальных трактов)	1	B	перипортальный фиброз	1
C	умеренный некроз менее 50 % окружности портальных трактов	3	C	умеренная (затрагивает от 1/3 до 2/3 печеночных долек)	3	C	умеренная (увеличение количества воспалительных клеток в 1/3-2/3 доле портальных трактов)	3	C	мостовидный фиброз (портально-портальный или портально-центральный)	3
D	значительный некроз более чем 50 % окружности портальных трактов	4	D	выраженная (более 2/3 печеночных долек)	4	D	выраженная (плотная воспалительная инфильтрация более чем в 2/3 портальных трактов)	4	D	цирроз	4
E	умеренный некроз + мостовидный некроз	5									
F	значительный некроз + мостовидный некроз	6									
G	мультилобулярный некроз	10									

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Биохимический анализ крови. Через неделю после воздействия фракционного локального облучения электронами во II группе обнаружено увеличение показателей аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспар-

атаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и общего билирубина по сравнению с контрольными значениями. В то же время наблюдали менее выраженное увеличение перечисленных показателей в группе, в которой вводили аскорбиновую кислоту (табл. 2).

Таблица 2

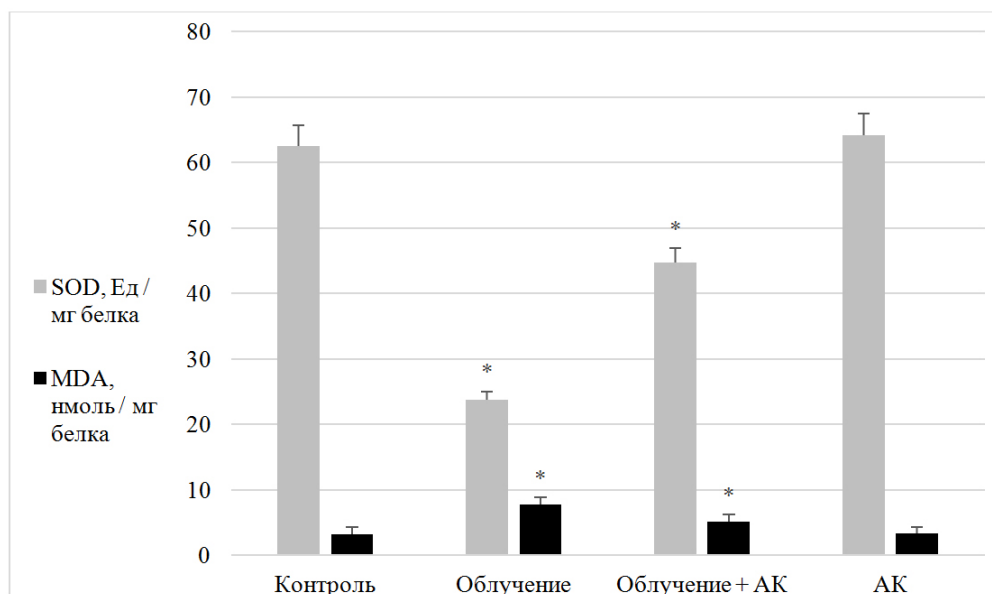
Показатели биохимического анализа крови контрольной и опытных групп

Группа	АлАТ, Ед./л	АсАТ, Ед./л	ЩФ, Ед./л	Билирубин, мкмоль/л
Контроль	30,3 ± 0,9	148,2 ± 3,3	24,6 ± 0,5	6,9 ± 0,3
Облучение	73,4 ± 2,1a	179,3 ± 3,5a	68,3 ± 1,1a	11,1 ± 0,5a
Облучение + АК	44,6 ± 1,3b	167,6 ± 3,4b	42,1 ± 0,8b	8,6 ± 0,4 b
АК	29,4 ± 0,7	143,4 ± 3,3	26,7 ± 0,6	6,8 ± 0,3

Примечание: данные представлены в виде средних значений (диапазон), проведены тест Крускал – Уоллиса и U-тест Манн – Уитни. Статистическая достоверные различия по сравнению с контролем в группах Облучение (a) и Облучение + АК (b); p < 0,05.

Оценка оксидантного статуса. В гомогенате тканей печени после фракционного облучения электронами в дозе 30 Гр обнаружили увеличение уровня малонового диальдегида (MDA) в 2,4 раза и снижение уровня супероксиддисмутазы (SOD) в 2,6 раза по сравнению с контролем. Менее выра-

женные изменения MDA и SOD обнаружили в III группе: увеличение MDA в 1,6 раза и уменьшение SOD в 1,4 раза по сравнению со значениями контрольной группы. В IV группе не наблюдали достоверного изменения уровней SOD и MDA по сравнению с контролем (рис. 1).



* Статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Рис. 1. Показатели супероксиддисмутазы (SOD) и малонового диальдегида (MDA) в гомогенатах печени контрольной и опытных групп

Гистологическое исследование. В контрольной группе отмечали нормальную гистоархитектонику печеночной паренхимы: печеночные балки, радиально отходящие от центральной вены, с гепатоцитами полигональной формы и центрально расположенным крупным ядром. Между печеночными балками расположены единичные клетки Купфера, выстилающие синусоиды. Оценка по шкале НАИ составила 0 баллов (рис. 2).

В группе фракционного локального облучения электронами в СОД 30 Гр через неделю наблюдали мелкие кисты; баллонную дистрофию большин-

ства гепатоцитов (вакуолизацию цитоплазмы и пикноз ядер), преимущественно в зоне III; фокальную атрофию $1/3-2/3$ части печеночных долек; умеренный частичный некроз (менее 50 % окружности большинства портальных трактов); клеточную воспалительную инфильтрацию $1/3-2/3$ части портальных трактов (в том числе мононуклеарными клетками); фиброз отсутствовал (по шкале НАИ, в среднем, 9 баллов). Кроме того, обнаружили расширение и застой синусоидов, гиперплазия клеток Купфера, перисинусоидальные кровоизлияния, гиперплазию стенки желчных протоков (рис. 2).

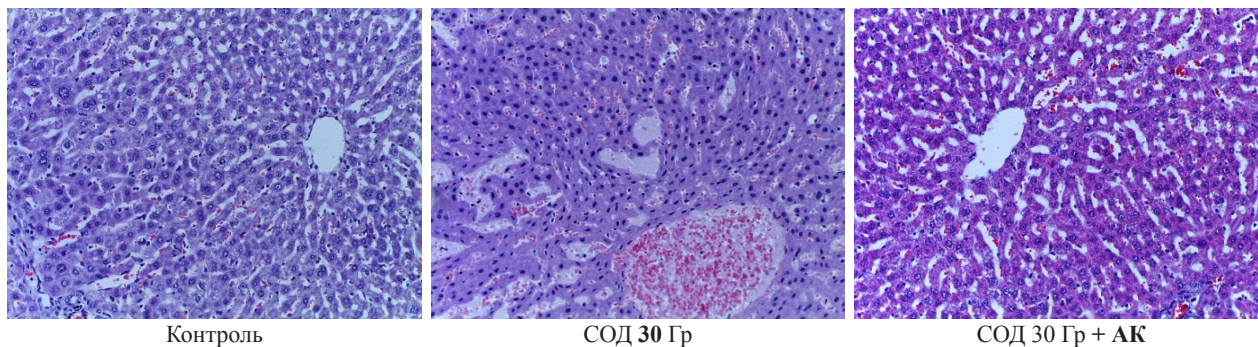


Рис. 2. Печень контрольной и опытных групп. Окрашивание гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$

Введение аскорбиновой кислоты в III группе привело к менее выраженному повреждению печени в соответствии с морфологическими критериями: фокальную атрофию и вакуолизацию цитоплазмы некоторых гепатоцитов (менее чем в $1/3$ части печеночных долек),

воспалительный инфильтрат занимал менее $1/3$ части портальных трактов, фиброз отсутствовал (по шкале НАИ, в среднем, 4 балла) (рис. 2).

Достоверных различий в морфологической картине IV группы по сравнению с контролем не выявили.

Морфометрическое исследование. При морфометрическом исследовании печени через неделю после фракционного локального облучения электронами в СОД 30 Гр обнаружили резкое снижение объемной плотности (уменьшение количества гепатоцитов на единицу объема) и диаметра гепатоцитов, что сопровождалось расширением диаметра центральной вены (в 4,3 раз) и гиперплазией клеток Купфера по сравнению с контрольными значениями (табл. 3).

Предлучевое введение аскорбиновой кислоты через неделю после фракционного локального облучения электронами в СОД 30 Гр привело к менее выраженному снижению объемной плотности и диаметра гепатоцитов и незначительному увеличению диаметра центральной вены (в 2,3 раз) и количества клеток Купфера по сравнению с контрольными значениями. В IV группе не обнаружили достоверной разницы в исследуемых морфометрических параметрах по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Таблица 3

Морфометрические показатели печени контрольной и опытных групп

Группа	Объемная плотность гепатоцитов	Диаметр гепатоцита, мкм	Диаметр центральной вены, мкм	Количество клеток Купфера, в 1 см ²
Контроль	0,794 ± 0,004	1,1 ± 0,04	5,6 ± 0,05	4825,3 ± 9,2
Облучение	0,539 ± 0,002a	2,9 ± 0,05a	24,3 ± 0,6a	7274,2 ± 37,8a
Облучение + АК	0,681 ± 0,003b	1,7 ± 0,04b	12,8 ± 0,3b	5961,9 ± 23,5b
АК	0,789 ± 0,004	1,1±0,03	5,7 ± 0,05	4812,7 ± 14,7

Примечание: данные представлены в виде средних значений (диапазон), проведены тест Крускал – Уоллиса и U-тест Манн – Уитни. Статистическая достоверные различия по сравнению с контролем в группах Облучение (a) и Облучение + АК (b); p < 0,05.

Настоящая работа посвящена структурно-функциональному исследованию протективного эффекта аскорбиновой кислоты на печень в модели лучевого гепатита, индуцированного фракционным облучением электронами в СОД 30 Гр.

В процессе развития постлучевых поражений выделяют две фазы: воспалительную (раннюю) и фибропластическую (позднюю) [9]. В настоящем исследовании уделено внимание воспалительной фазе, развивающейся после воздействия на печень локального облучения электронами в СОД 30 Гр – лучевому гепатиту. Радиационно-индуцированное повреждение печени было подтверждено в соответствии с общепринятыми гистологическими критериями [8].

Биохимический анализ крови после локального облучения электронами в СОД 30 Гр демонстрировал увеличение концентраций индикаторных (АлАТ, АсАТ) и экскреторных (ЩФ) ферментов печени, а также общего билирубина. Такие изменения свидетельствуют о функциональной несостоятельности печени, вероятно связанной с развитием патологических лабораторных синдромов цитолиза (АлАТ, АсАТ) и холестаза (ЩФ, билирубин) в результате радиационно-индуцированной гибели гепатоцитов. Помимо прямого воздействия электронов на ДНК гепатоцитов, существует косвенный механизм, который заключается в генерации высоких концентраций активных форм кислорода, реактивных форм азота, продуктов перекисного окисления липидов и других свободных радикалов

[5]. Это приводит к развитию оксидативного стресса и истощению антиоксидантной системы. Лабораторно это подтверждено интенсификацией перекисного окисления липидов (уровень малонового диальдегида в гомогенате печени) и угнетением антиоксидантной защиты (снижение концентрации одного из наиболее важных ферментов – супероксиддисмутазы). Аналогичные, однако более выраженные, результаты были получены другими авторами при использовании γ-излучения [10]. Кроме того, не исключено влияние ионизирующего излучения на сосуды с развитием вторичного ишемического повреждения печени.

Так, принимая во внимание отсутствие эффективных методов защиты ДНК от прямого воздействия ионизирующего излучения, большинство исследований направлено на разработку методов профилактики и лечения косвенного радиационно-индуцированного повреждения органов. В этом контексте используются протекторные препараты, наиболее известными из которых являются антиоксиданты, например, аскорбиновая кислота.

Предлучевое введение аскорбиновой кислоты способствует снижению генерации токсичных свободных радикалов (относительно низкие уровни MDA) и предотвращает развитие оксидативного стресса, поддерживая состоятельность антиоксидантной системы (уровень SOD практически приближался к контрольным значениям). Это привело к уменьшению степени постлучевого повреждения

печени и замедлению гибели гепатоцитов, что подтверждено результатами морфологического, морфометрического и биохимического исследований, позволяя говорить о возможном протективном действии аскорбиновой кислоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам морфофункционального исследования печени выявили, что локальное облучение электронами в СОД 30 Гр через неделю приводит к нарушению гистоархитектоники с развитием лучевого гепатита. Введение аскорбиновой кислоты снижает глубину и диапазон радиационно-индуцированного повреждения, усиливает эффективность антиоксидантной защиты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Радиационная защита и безопасность источников излучения: Международные основные нормы безопасности. Серия норм безопасности МАГАТЭ. No. GSR Part 3. Safety Standards Series. 2015. 477 с. URL: https://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/Pub1578_R_web.pdf.
2. Singh V.K., Seed T.M. Pharmacological management of ionizing radiation injuries: current and prospective agents and targeted organ systems. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21(3):317–337. doi:10.1080/14656566.2019.1702968.
3. Yang W., Shao L., Zhu S. et al. Transient Inhibition of mTORC1 Signaling Ameliorates Irradiation-Induced Liver Damage. *Front Physiol*. 2019;10:228. doi: 10.3389/fphys.2019.00228.

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

Информация об авторах

Григорий Александрович Демьякин – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва; заведующий отделом патоморфологии, Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Обнинск, Россия; ✉ dr.dga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Владислав Андреевич Якименко – врач анестезиолог-реаниматолог, аспирант, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; Yavladislav87@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2308-6313>

Матвей Анатольевич Вадюхин – студент института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; vma20@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6235-1020>

Алина Алихановна Китиева – студент института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; kitievalina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-7422-4855>

Наталья Васильевна Васильева – студентка института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; Vaasilevaan@ya.ru, <https://orcid.org/0009-0000-3536-1496>

4. Abdel-Aziz N., Haroun R.A., Mohamed H.E. Low-Dose gamma radiation modulates liver and testis tissues response to acute whole body irradiation. *Dose Res-ponse*. 2022;20(2): 15593258221092365. doi: 10.1177/15593258221092365.

5. Reisz J.A., Bansal N., Qian J. et al. Effects of ionizing radiation on biological molecules--mechanisms of damage and emerging methods of detection. *Antioxid Redox Signal*. 2014;21(2):260–292. doi:10.1089/ars.2013.5489

6. Campesi I., Brunetti A., Capobianco G., et al. Sex differences in x-ray-induced endothelial damage: effect of taurine and n-acetylcysteine. *antioxidants*. 2023;12:77. doi: 10.3390/antiox12010077.

7. Attia A.A., Hamad H.A., Fawzy M.A. et al. The Prophylactic Effect of Vitamin C and Vitamin B12 against Ultraviolet-C-Induced Hepatotoxicity in Male Rats. *Molecules*. 2023;28(11):4302.

8. Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C. et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431–435. doi: 10.1002/hep.1840010511.

9. Straub J.M., New J., Hamilton C.D. et al. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015;141(11):1985–1994. doi:10.1007/s00432-015-1974-6.

10. Azab K.S., Maarouf R.E., Abdel-Rafei M.K. et al. Withania somnifera (Ashwagandha) root extract counteract acute and chronic impact of γ -radiation on liver and spleen of rats. *Hum Exp Toxicol*. 2022;41:9603271221106344. doi: 10.1177/09603271221106344.

Статья поступила в редакцию 09.11.2023; одобрена после рецензирования 05.03.2024; принята к публикации 04.06.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Grigory A. Demyashkin – MD, Head of the Laboratory of Histology and Immunohistochemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow; Head of the Department of Pathomorphology, National Medical Research Center of Radiology, Obninsk, Russia; ✉ dr.dga@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Vladislav A. Yakimenko – anesthesiologist-intensive care physician, postgraduate student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; Yavladislav87@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2308-6313>

Matvey A. Vadyukhin – a student of the N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; vma20@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6235-1020>

Alina A. Kitieva – student of the N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; kitievalina@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0008-7422-4855>

Natalia V. Vasilyeva – student of the N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia; Vaasilevaan@ya.ru, <https://orcid.org/0009-0000-3536-1496>

The article was submitted 09.11.2023; approved after reviewing 05.03.2024; accepted for publication 04.06.2024.