

УДК 57:619:591.2

DOI: 10.30914/2411-9687-2023-9-1-44-49

**СЕМЕННИКИ ПОТОМСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ
ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДОЗ ЭСТРОГЕНА****Р. Т. Сулайманова***Частное учреждение образовательная организация высшего образования Университет «РЕАВИЗ»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Аннотация. Введение. Репродуктивное здоровье является одной из самых важных проблем во всем мире, от которого зависит существование будущего потомства. **Целью** настоящего исследования явилось изучение морфометрических показателей семенников потомства, родившегося от матерей белых беспородных лабораторных мышей, которым на стадии гестации E 11.5 беременности вводили экспериментальные дозы синтетического аналога эстрогена синэстрол. **Материалы и методы.** В качестве экспериментальных животных использовали самок белых беспородных лабораторных мышей массой 19–21 г. Животные были разделены на 2 группы – интактная и экспериментальная. На стадии гестации E 11.5 беременности в одно и то же время суток выполнено внутримышечное однократное введение 2 % масляного раствора синтетического аналога эстрогена синэстрола в дозе 25 мкг/кг, «С-25» и 2 % масляного раствора в дозе 40 мкг/кг «С-40». **Результаты и обсуждение.** В анализе морфофункционального состояния семенников потомства половозрелых самцов, матерям которых во время беременности вводили синтетический аналог эстрогена синэстрол в дозе 25 мкг/кг и в дозе 40 мкг/кг, отмечалась морфофункциональная перестройка стромальных компонентов исследуемых параметров коркового и мозгового вещества яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей, которые проявляются в виде уменьшения их средних показателей. Эти изменения представляют собой достоверные критерии, отражающие патологические структурно-функциональные изменения в семенниках потомства в виде снижения продукции половых клеток в просвете канальца, а также угнетения регуляции интенсивности процессов сперматогенеза. **Заключение.** Выявленное на экспериментальной модели пренатальное воздействие синтетического аналога эстрогена синэстрола дает возможность использовать ее для коррекции тестикулярной дисфункции постнатального развития, а также разработки оптимальных доз введения препаратов эстрогенового ряда во время беременности.

Ключевые слова: потомство, белые беспородные лабораторные мыши, семенники, пренатальное воздействие

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Сулайманова Р. Т. Семенники потомства лабораторных мышей при пренатальном введении экспериментальных доз эстрогена // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2023. Т. 9. № 1. С. 44–49. DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2023-9-1-44-49>

**TESTES OF OFFSPRING OF LABORATORY MICE AT PRENATAL ADMINISTRATION OF
EXPERIMENTAL DOSES OF ESTROGEN****R. T. Sulaymanova***Private institution educational organization of higher education "Medical University "REAVIZ",
St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. Introduction. Reproductive health is one of the most important problems worldwide on which the existence of future offspring depends. **The purpose** of this study was to investigate the morphometric indices of testes of offspring born by mothers of white mongrel mice which were administered experimental doses of synestrol, a synthetic estrogen analogue, at the gestational stage E 11.5. **Materials and Methods.** Female white mongrel laboratory mice weighing 19–21 g were used as experimental animals. The animals were divided into 2 groups: intact and experimental. At the gestation stage E 11.5 of pregnancy, intramuscular single injection of 2 % oil solution of synthetic estrogen analogue synestrol in a dose of 25 µg/kg "C-25" and 2 % oil solution in a dose of 40 µg/kg "C-40" was given at the same time of the day. **Results and discussion.** In the analysis of the

morphofunctional condition of the testes of the offspring of mature males, whose mothers were injected synthetic estrogen analogue synestrol in a dose of 25 µg/kg and a dose of 40 µg/kg, morphofunctional changes in the stromal components of the studied parameters of the cortex and medulla of the ovaries of the offspring of white mongrel laboratory mice, which appear as a decrease in their average values, were noted. These changes are reliable criteria reflecting pathological structural and functional changes in the testes of progeny in the form of reduced production of germ cells in the tubule lumen as well as inhibited regulation of the intensity of spermatogenesis. **Conclusion.** The prenatal effects of synestrol, a synthetic estrogen analogue, identified in an experimental model, provide an opportunity to use it to correct postnatal developmental testicular dysfunction as well as to develop optimal doses of estrogenic preparations during pregnancy

Keywords: offspring, white mongrel laboratory mice, testes, prenatal exposure

The author declares no conflict of interest.

For citation: Sulaymanova R. T. Testes of offspring of laboratory mice at prenatal administration of experimental doses of estrogen. *Vestnik of the Mari State University. Chapter "Agriculture. Economics"*, 2023, vol. 9, no. 1, pp. 44–49. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2023-9-1-44-49>

Введение

Репродуктивное здоровье является одной из самых важных проблем во всем мире, от которого зависит существование будущего потомства [5].

Исследования функционирования и механизмов регуляции деятельности половых желез является одной из важнейших проблем современной биологии и ветеринарии. В настоящее время особое внимание уделяется изучению влияния на репродуктивную функцию неблагоприятных факторов. Без глубокого познания вредных факторов, воздействующих на семенник и оказывающих отрицательное влияние на его герминативную и эндокринную функции, невозможно решить вопросы влияния эстрогенподобных веществ [2].

Следует особо выделить последствия неблагоприятных средовых воздействий на репродуктивную систему, так как нарушения репродуктивной функции касаются здоровья не только существующих, но и будущих поколений [6; 7].

Анализ научных источников показывает особую опасность последствий воздействия эндокринных деструкторов в пренатальном онтогенезе и во время полового созревания, проявляющихся так называемым «феминизирующим эффектом». Об этом также свидетельствуют данные о росте у потомства мужского пола врожденных пороков феминизирующего типа – крипторхизма и гипоспадии. Появились данные о связи «пестицидной нагрузки» и влияния других вредных факторов на организм отцов с возникновением крипторхизма и гипоспадии у потомства [1; 9; 10].

Целью настоящего исследования явилось изучение морфометрических показателей семенников потомства, родившегося от матерей белых беспородных лабораторных мышей, которым на стадии гестации E 11.5 беременности вводили экспериментальные дозы синтетического аналога эстрогена синэстрол.

Особенностью данной работы явилось то, что эксперименты проведены по единой методике на животных одного вида и в едином эксперименте, которые позволяют сравнивать полученные результаты у потомства.

Таким образом, исследование морфологии гонад потомства в условиях воздействия различных доз препаратов эстрогенов в период их пренатальной закладки и формирования является актуальной, малоизученной научной проблемой, имеющей важное научно-практическое значение.

Материал и методы исследований

В качестве экспериментальных животных использовали самок белых беспородных лабораторных мышей массой 19–21 г. Животные были разделены на 2 группы – интактная и экспериментальная. На стадии гестации E 11.5 беременности в одно и то же время суток выполнено внутримышечное однократное введение 2 % масляного раствора синтетического аналога эстрогена синэстрола в дозе 25 мкг/кг «С-25» и 2 % масляного раствора в дозе 40 мкг/кг «С-40». Расчеты эффективности дозы препарата производили в соответствии с коэффициентом для перерасчета доз веществ в мкг/кг для мышей [4].

Название группы образуется с учетом вводимого вещества и его дозы, синэстрол 25 мкг/кг – «С-25», синэстрол 40 мкг/кг «С-40», интактная группа не подвергалась воздействию.

Полученное потомство самцов выводили из опыта на 90-е сутки в одну и ту же фазу – диэструс [3; 8] и усыпляли в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 о защите животных в научных целях и рекомендациями других международных, российских и институциональных правил в области биоэтики. Для оценки морфологических изменений извлекали семенник потомства. Органы фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов, подвергали стандартной гистологической обработке.

Зафиксированные органы были разрезаны однотипно по центру органа, структурные компоненты семенников были изучены на стандартной площади среза органов. Измерения средних параметров морфометрических структур семенников потомства проводились на всей площади среза органа¹. Морфометрию и визуализацию гистологических препаратов семенников потомства производили с использованием инвертированного биологического микроскопа для лабораторных исследований Axioobserver со штативом D1 компании-производителя Carl Zeiss Microscopy GmbH

(Германия), со специализированным программным обеспечением ZEN 2018

Для подсчета структурных элементов в гонадах потомства использовался иммерсионный объектив 90x, на стандартных полях зрения². Фотосъемку гистологических препаратов производили цифровой камерой AxioCam MRc5 (ZEISS, Япония) при увеличении x100.

Статистическую обработку осуществляли с использованием программы Statistica 7.0 (StatSoft, США). По каждому параметру вычисляли среднее арифметическое значение и его стандартную ошибку ($M \pm SD$). Достоверность изменений оценивали с помощью метода Краскела – Уолиса, различия определяли при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты

Результаты морфометрического анализа семенников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном введении синтетического аналога эстрогена синэстрола в дозе 25 мкг/кг (табл.) показали изменения в строении органа, проявляющиеся в виде: уменьшения среднего количества клеток Сертоли «С-25» $18,4 \pm 1,1$ ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой $20,8 \pm 1,9$; уменьшения среднего количества сперматозоидов «С-25» $175,0 \pm 3,8$ ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой $196,6 \pm 5,3$.

Таблица / Table

Морфометрический анализ семенников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном введении синтетического аналога эстрогена синэстрола / Morphometric analysis of the testes of the offspring of white mongrel laboratory mice during prenatal single administration of the synthetic estrogen analogue synestrol

Показатели / Indicators	Интактная / Intact	«С-25»	«С-40»
Среднее количество извитых семенных канальцев	$28,8 \pm 2,6$	$28,4 \pm 2,1$	$26,4 \pm 1,1$
Средняя площадь поперечного сечения извитого семенного канальца, мкм^2	$1696,20 \pm 562,39$	$1515,61 \pm 280,17$	$1651,23 \pm 442,11$
Средний диаметр извитых семенных канальцев, мкм	$22,38 \pm 4,36$	$19,99 \pm 2,98$	$21,56 \pm 4,42$
Средняя толщина сперматогенного эпителия, мкм	$4,41 \pm 0,86$	$4,45 \pm 0,47$	$4,71 \pm 0,53$
Среднее количество клеток Сертоли	$20,8 \pm 1,9$	$18,4 \pm 1,1^*$	$17,4 \pm 1,1^*$
Среднее количество сперматогониев	$26,4 \pm 1,1$	$25,4 \pm 1,1$	$24,4 \pm 1,1^*$
Среднее количество сперматоцитов	$32,6 \pm 2,1$	$31,0 \pm 1,6$	$30,2 \pm 1,3$
Среднее количество сперматид	$28,6 \pm 1,7$	$27,2 \pm 0,8$	$28,0 \pm 1,0$
Среднее количество сперматозоидов	$196,6 \pm 5,3$	$175,0 \pm 3,8^*$	$178,0 \pm 4,2^*$
Средняя площадь ядер клеток Лейдига, мкм^2	$6,72 \pm 1,78$	$5,88 \pm 1,43$	$4,93 \pm 1,31^*$

Примечание: * – в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

¹ Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина. 1990. 384 с.

² Там же.

Наблюдалось изменение в эндокринной функции семенников потомства, выражающееся в уменьшении средней площади ядер клеток Лейдига, в интактной группе показатель составил $6,72 \pm 1,78$, в опытной группе «С-25» – $5,88 \pm 1,43$ ($p \leq 0,05$).

Среднее количество извитых семенных канальцев в интактной группе составило $28,8 \pm 2,6$, в опытной «С-25» – $28,4 \pm 2,1$. Средняя площадь поперечного сечения извитого семенного канальца в интактной группе показал $1696,20 \pm 562,39$, «С-25» – $1515,61 \pm 280,17$. Средний диаметр извитых семенных канальцев в интактной группе составил $22,38 \pm 4,36$, «С-25» – $19,99 \pm 2,98$. Средняя толщина сперматогенного эпителия в интактной группе $4,41 \pm 0,86$, «С-25» – $4,45 \pm 0,47$. Среднее количество сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца показал, что в интактной группе показатель составил $26,4 \pm 1,1$, а в опытной группе «С-25» – $25,4 \pm 1,1$. Среднее количество сперматозоидов в интактной группе составило $32,6 \pm 2,1$, «С-25» – $31,0 \pm 1,6$. Среднее количество сперматид в эпителии извитого семенного канальца составило в интактной группе $28,6 \pm 1,7$, а в опытной группе «С-25» – $27,2 \pm 0,8$.

Результаты морфометрического анализа семенников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном введении синтетического аналога эстрогена синэстрола в дозе 40 мкг/кг (табл.) показали патоморфологические изменения в паренхиме органа, проявляющиеся в виде: уменьшения среднего количества клеток Сертоли «С-40» $17,4 \pm 1,1$ ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой $20,8 \pm 1,9$; уменьшения среднего количества сперматогоний «С-40» $24,4 \pm 1,1$ ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой $26,4 \pm 1,1$, уменьшения среднего количества сперматозоидов «С-40» $178,0 \pm 4,2$ ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой $196,6 \pm 5,3$).

Наблюдалось изменение в эндокринном аппарате семенников потомства, выражающееся в уменьшении средней площади ядер клеток Лейдига, интактная группа составила $6,72 \pm 1,78$, опытная группа «С-40» – $4,93 \pm 1,31$ ($p \leq 0,05$).

Наблюдалось незначительное уменьшение на стандартной площади среднего количества извитых семенных канальцев в опытной группе «С-40» $26,4 \pm 1,1$ по сравнению с интактной группой $28,8 \pm 2,6$. Средняя площадь поперечного сечения извитого семенного канальца изменений не показал: в интактной группе составил $1696,20 \pm 562,39$, в опытной группе «С-40» – $1651,23 \pm 442,11$. Средний диаметр извитых семенных канальцев в интактной группе составил $22,38 \pm 4,36$, а в опытной группе «С-40» – $21,56 \pm 4,42$. Показатель средней толщины сперматогенного эпителия в интактной группе составил $4,41 \pm 0,86$, в опытной группе «С-40» – $4,71 \pm 0,53$. Значительных изменений не наблюдалось в показателях среднего количества сперматозоидов и сперматидов.

Выводы

Таким образом, в анализе морфофункционального состояния семенников потомства половозрелых самцов, матерям которых во время беременности вводили синтетический аналог эстрогена синэстрола в дозе 25 мкг/кг и в дозе 40 мкг/кг, отмечалась морфофункциональная перестройка стромальных компонентов исследуемых параметров коркового и мозгового вещества яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей, которые проявляются в виде уменьшения их средних показателей. Эти изменения представляют собой достоверные критерии, отражающие патологические структурно-функциональные изменения в семенниках потомства в виде снижения продукции половых клеток в просвете канальца, а также угнетения регуляции интенсивности процессов сперматогенеза.

Выявленное на экспериментальной модели пренатальное воздействие синтетического аналога эстрогена синэстрола дает возможность использовать ее для коррекции тестикулярной дисфункции постнатального развития, а также разработку оптимальных доз введения препаратов эстрогенового ряда во время беременности.

1. Амстиславский С. Я., Ерошенко В. П. Влияние экоэстрогенов на развитие репродуктивной системы млекопитающих // Онтогенез. 2000. № 3. С. 165–177.
2. Никитин А. И., Сергеев О. В., Суворов А. Н. Влияние вредных факторов среды на репродуктивную, эндокринную системы и эпигеном. М. : Акварель, 2016. 348 с. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29294185> (дата обращения: 14.02.2023).
3. Горбатюк С. М. Возрастные стромально-паренхиматозные перестройки яичников белых крыс // Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16. № 1. С. 71–73. URL: <https://inlnk.ru/10kPGn> (дата обращения: 17.02.2023).

4. Гуськова Т. А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований // Токсикологический вестник. 2010. № 5 (104). С. 2–6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/doklinicheskoe-toksikologicheskoe-izuchenie-lekarstvennyh-sredstv-kak-garantiya-bezopasnosti-provedeniya-ih-klinicheskikh> (дата обращения: 09.02.2023).
5. Кхан Р. Б. Проблемы репродуктивного здоровья населения в условиях антропогенного загрязнения (обзор литературы) // Оренбургский медицинский вестник. 2018. Т. VI. № 3 (23). С. 4–11. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-reproduktivnogo-zdorovya-naseleniya-v-usloviyah-antropogennogo-zagryazneniya-obzor-literatury> (дата обращения: 18.02.2023).
6. Никитин А. И. Гормоноподобные загрязнители биосферы и их влияние на репродуктивную функцию человека // Биосфера. 2009. № 2. С. 218–229. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gormonopodobnye-zagryazniteli-biosfery-i-ih-vliyanie-na-reproduktivnuyu-funktsiyu-cheloveka> (дата обращения: 12.02.2023).
7. Румпель О. А. Пахомова А. В., Вычужанина А. В. Коррекция нарушений генеративной функции семенников крыс, вызванных цитостатическим воздействием // Сибирский онкологический журнал. 2010. № 1. С. 86.
8. Cora M. C., Kooistra L., Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears // Toxicologic Pathology. 2015. Vol. 43. No. 6. Pp. 776–793. DOI: <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>
9. Paulozzi L. J. International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism // Environmental Health Perspectives. 1999. Vol. 107. No. 4. Pp. 297–302. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.99107297>
10. Weinder J. S., Moller H., Jensen T. K., Skakkebaek N. E. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. // Environmental Health Perspectives. 1998. Vol. 106. No. 12. Pp. 793–796. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.98106793>

Статья поступила в редакцию 22.02.2023 г.; одобрена после рецензирования 17.03. 2023 г.; принята к публикации 04.04.2023 г.

Об авторе

Сулайманова Римма Тагировна

кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой медико-биологических дисциплин, Частное учреждение образовательная организация высшего образования Университет «РЕАВИЗ» (198095, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Калинина, д. 8, корпус 2, лит. А), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1658-9054>, rimma2006@bk.ru

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.

1. Amstislavsky S. Ya., Eroshenko V. P. Vliyanie ekoestrogenov na razvitie reproduktivnoi sistemy mlekopitayushchikh [The effect of estrogens on the development of the mammalian reproductive system]. *Ontogenez* = Russian Journal of Developmental Biology, 2000, no. 3, pp. 165–177. (In Russ.).
2. Nikitin A. I., Sergeev O. V., Suvorov A. N. Vliyanie vrednykh faktorov sredy na reproduktivnuyu, endokrinnuyu sistemu i epigenom: monografiya [The influence of harmful environmental factors on the reproductive, endocrine systems and epigenome: monograph]. М., Aquarelle Publ., 2016, 348 p. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29294185> (accessed 14.02.2023). (In Russ.).
3. Gorbatyuk S. M. Vozrastnye stromal'no-parenkhimatoznye perestroiki yaichnikov belykh krysov [Age-dependent stromal-parenchymal restructuring of white rats ovaries]. *Tavrisheskii mediko-biologicheskii vestnik* = Tavrichesky Medico-biological Vestnik, 2013, vol. 16, no. 1, pp. 71–73. Available at: <https://inlnk.ru/l0kPGn> (accessed 17.02.2023). (In Russ.).
4. Guskova T. A. Doklinicheskoe toksikologicheskoe izuchenie lekarstvennykh sredstv kak garantiya bezopasnosti provedeniya ikh klinicheskikh issledovaniy [Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of their safe clinical investigations]. *Toksikologicheskii vestnik* = Toxicological Review, 2010, no. 5 (104), pp. 2–6. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/doklinicheskoe-toksikologicheskoe-izuchenie-lekarstvennyh-sredstv-kak-garantiya-bezopasnosti-provedeniya-ih-klinicheskikh> (accessed 09.02.2023). (In Russ.).
5. Khan R. B. Problemy reproduktivnogo zdorov'ya naseleniya v usloviyakh antropogennogo zagryazneniya (obzor literatury) [Problems of reproductive health of the population in conditions of anthropogenic pollution (review of literature)]. *Orenburgskii meditsinskii vestnik* = Orenburg Medical Bulletin, 2018, vol. VI, no. 3 (23), pp. 4–11. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/problemy-reproduktivnogo-zdorovya-naseleniya-v-usloviyah-antropogennogo-zagryazneniya-obzor-literatury> (accessed 18.02.2023). (In Russ.).
6. Nikitin A. I. Gormonopodobnye zagryazniteli biosfery i ikh vliyanie na reproduktivnuyu funktsiyu cheloveka [Hormone-like pollutants of the biosphere and their impact on human reproductive function]. *Biosfera* = Biosphere, 2009, no. 2, pp. 218–229. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/gormonopodobnye-zagryazniteli-biosfery-i-ih-vliyanie-na-reproduktivnuyu-funktsiyu-cheloveka> (accessed 12.02.2023). (In Russ.).

7. Rumpel O. A. Pakhomova A. V., Vychuzhanina A. V. Korrektsiya narushenii generativnoi funktsii semennikov krys, vyzvannykh tsitostaticheskimi vozdeistviem [Correction of violations of the generative function of rat testicles caused by cytostatic exposure]. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal* = Siberian Journal of Oncology, 2010, no. 1, p. 86. (In Russ.)

8. Cora M. C., Kooistra L., Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic Pathology*, 2015, vol. 43, no. 6, pp. 776–793. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>

9. Paulozzi L. J. International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism. *Environmental Health Perspectives*, 1999, vol. 107, no. 4, pp. 297–302. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.99107297>

10. Weinder J. S., Moller H., Jensen T. K., Skakkebaek N. E. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. *Environmental Health Perspectives*, 1998, vol. 106, no. 12, pp. 793–796. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.98106793>

The article was submitted 22.02.2023; approved after reviewing 17.03.2023; accepted for publication 04.04.2023.

About the author

Rimma T. Sulaymanova

Ph. D. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of Medical and Biological Disciplines, Private institution educational organization of higher education "Medical University "REAVIZ" (8, building 2, lit. A, Kalinin St., St. Petersburg 198095, Russian Federation), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1658-9054>, rimma2006@bk.ru

The author has read and approved the final manuscript.