

МОРФОЛОГИЯ, ПАТОЛОГИЯ

MORPHOLOGY, PATHOLOGY

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2023.2.MORPH.1>

ORIGINAL ARTICLE

УДК 619:616.832-002-085

УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТИРОЦИТОВ ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТАРТРАЗИНА И НАНЕСЕНИЯ ДЕФЕКТА В БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЯХ, ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАТРИЯ СЕЛЕНИТА

В.Н. Морозов¹, В.И. Лузин²

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

²Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки, Луганск

Резюме. *Цель:* выявить особенности ультрамикроскопического строения тироцитов щитовидной железы крыс в условиях после 60-дневного воздействия тартразина и смоделированного травматического дефекта кости, а также установить эффективность натрия селенита. *Материал и методы.* Белые половозрелые крысы-самцы были разделены на три группы. В первой группе крысам после предшествующего 60-дневного внутрижелудочного введения физиологического раствора наносился сквозной дефект в большеберцовых костях; во второй группе в подобных условиях эксперимента вместо физиологического раствора крысы подвергались 60-дневному воздействию тартразина в дозировке 750 мг/кг, а в третьей группе – дополнительно внутримышечно вводился натрия селенит в дозе 40 мкг/кг/сутки. На 3, 10, 15, 24 и 45 сутки животные выводились из эксперимента, образцы щитовидной железы подвергались обработке для электронно-микроскопического исследования по стандартной методике. *Результаты.* У животных второй группы на электронограммах с 3 по 15 сутки в ядре преобладал неактивный хроматин, в цитоплазме расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети, единичные митохондрии с участками деструкции матрикса. Встречались клетки в состоянии апоптоза. К 24 суткам во второй группе ультрамикроскопическая картина практически полностью восстанавливалась до контрольных значений. В третьей группе выявлено увеличение площади активного эухроматина в ядре, восстановление просветов канальцев гранулярной эндоплазматической сети, увеличение количества лизосом в цитоплазме, уменьшение числа митохондрий с признаками деструкции крист и клеток с признаками апоптоза. *Заключение.* Дефект в кости, наносимый после предшествующего 60-дневного воздействия тартразина вызывает усугубление ультрамикроскопических изменений тироцитов, по сравнению с группой без введения пищевой добавки, а использование натрия селенита позволяет, в определенной степени, нивелировать вызываемые тартразином изменения данных клеток к моменту травматического воздействия.

Ключевые слова: тироцит, дефект, большеберцовые кости, тартразин.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Соответствие нормам этики. Авторы подтверждают, что соблюдены правила обращения с животными при их использовании в биомедицинских исследованиях.

Для цитирования: Морозов В.Н., Лузин В.И. Ультрамикроскопические особенности тироцитов после 60-дневного воздействия тартразина и нанесения дефекта в большеберцовых костях, обоснование эффективности натрия селенита. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье.* 2023;13(2):11–15. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2023.2.MORPH.1>

ULTRAMICROSCOPIC FEATURES OF THYROCYTES AFTER 60 DAYS OF TARTRAZINE ADMINISTRATION AND INFLECTION OF A DEFECT IN THE TIBIAE AND SUBSTANTIATION OF THE EFFECTIVENESS OF SODIUM SELENITE

V.N. Morozov¹, V.I. Luzin²

¹Belgorod State National Research University, Belgorod

²Lugan State Medical University named after St. Luke, Lugansk

Abstract. *Aim.* Identify the features of the ultramicroscopic structure of thyrocytes in rats under conditions after 60 days of tartrazine administration and simulated traumatic bone defect, as well as to establish the effectiveness of sodium selenite. *Material and methods.* White mature male rats were divided into 3 groups. In Group 1, a through defect in the tibiae was applied to rats after the previous 60-day intragastric administration of saline solution. In Group 2, rats were subjected to 60-day exposure with tartrazine at a dosage of 750 mg/kg instead of saline solution under similar experimental conditions and in Group 3 – additionally intramuscularly injected sodium selenite at a dose of 40 µg/kg. On days 3, 10, 15, 24 and 45, the animals were removed from the experiment, samples of thyroid gland were processed for electron microscopic examination according to the standard method. *Results.* In Group 2, inactive chromatin prevailed in the nucleus, expanded cisterns of the rough endoplasmic

reticulum, single mitochondria with matrix destruction sites were observed in the cytoplasm from 3rd to 15th days of experiment. There were cells in a state of apoptosis. By the day 24, the ultramicroscopic picture was almost restored to the control values. In Group 3, an increase in the area of active euchromatin in the nucleus, restoration of the lumen of the cisterns of the rough endoplasmic reticulum, an increase in the number of lysosomes in the cytoplasm, a decrease in the number of mitochondria with signs of destruction of crystals and cells with signs of apoptosis were revealed. **Conclusion.** The bone defect applied after the previous 60-day administration of tartrazine causes an aggravation of ultramicroscopic changes in thyrocytes, compared with the group without the introduction of a food additive. Use of sodium selenite allows, to a certain extent, to neutralize the changes caused by tartrazine in these cells by the time of traumatic injury.

Key words: thyrocyte, defect, tibiae, tartrazine.

Competing interests. The authors declare no competing interests.

Funding. This research received no external funding.

Compliance with ethical principles. The authors confirm that the rules for the treatment of animals are observed when they are used in biomedical research.

Cite as: Morozov V.N., Luzin V.I. Ultramicroscopic features of thyrocytes after 60 days of tartrazine administration and infliction of a defect in the tibiae and substantiation of the effectiveness of sodium selenite. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ". Rehabilitation, Doctor and Health.* 2023;13(2):11–15. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2023.2.MORPH.1>

Введение

В Российской Федерации смертность от внешних причин, к которым, помимо прочего, относятся и травмы, занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, составляя 8–9 % в процентном выражении. Травматизм составляет серьёзную медицинскую проблему, а также сопровождается ограничением трудоспособности человека либо её потерей. В рамках государства это сопровождается снижением объёмов производства и срывом плановых показателей и, как следствие, экономическими последствиями [1]. Травма, как внешний воздействующий фактор, не только вызывает местные изменения в виде воспаления и нарушения целостности тканей, но и, в зависимости от тяжести, общую системную реакцию со стороны нервной и эндокринной систем. Щитовидная железа одна из первых включается в ответ, который заключается в уменьшении потерь энергии организмом путём уменьшения продукции тироксина и трийодтиронина и периферической конверсии последнего из тироксина [2].

В последнее время всё больше научных работ раскрывает механизмы влияния тартразина на различные клетки, их физиологические и биохимические константы. Появляются всё новые данные о неблагоприятных эффектах тартразина на показатели гематологических тестов, биохимических маркеров органов, иммунограмм, нейропсихологических тестов и др. [3]. Данная пищевая добавка является широко применяемой в индустрии изготовления пищевых продуктов, лекарств с целью улучшения цветовых показателей, придавая конечному продукту выраженный жёлтый или оранжевый цвет [4].

В предыдущей работе установлен факт, что длительное введение тартразина лабораторным крысам вызывает дозозависимое изменение ультраструктуры тироцитов щитовидной железы, указывающее на их гипосекрецию [5]. Однако данные о морфологических изменениях в этих клетках в условиях длительного введения тартразина и последующего искусственно созданного травматического повреждения кости в литературе полностью отсутствуют, а также не описаны пути фармакологической коррекции.

Цель: при помощи электронной микроскопии выявить особенности строения тироцитов щитовидной железы

крыс после 60-дневной интоксикации тартразином и смоделированного травматического дефекта кости, а также установить эффективность натрия селенита.

Материал и методы исследования

В качестве материала исследования выбраны белые крысы-самцы половозрелого возраста (90 особей). Животные вводились в эксперимент с исходной массой 200–210 г. В первой группе (КД) крысам после предшествующего 60-дневного внутрижелудочного введения физиологического раствора наносился сквозной дефект в проксимальной трети тела большеберцовых костей диаметром 2,2 мм [6]; во второй группе (ТД) в подобных условиях эксперимента вместо физиологического раствора крысы подвергались 60-дневной интоксикации тартразином в дозировке 750 мг/кг («Roha Dychem Pvt Ltd», Индия), а в третьей группе (ТД+НС) – дополнительно внутримышечно вводился натрия селенит в дозе 40 мкг/кг/сутки (торговое название – селеназа, Биосин Арцнайmittel ГмБГ, Германия). При проведении процедур в ходе эксперимента, содержании лабораторных животных руководствовались положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике ГУ «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», протокол № 2 от 25.03.2022 г. На 3, 10, 15, 24 и 45 сутки после экспериментальных воздействий крысы подвергались эвтаназии путём декапитации. Затем щитовидную железу разделяли на мелкие кусочки, которые помещались в 2,5 % раствор глютаральдегида, а затем в 1 % раствор осмия тетроксидом на фосфатном буфере. Для их обезвоживания использовался этиловый спирт возрастающей крепости и абсолютный ацетон. Обезвоженные образцы помещали в смесь «Эпон-аралдит» и выдерживались 36 часов в термостате при температуре 60 °С. На ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон» получали срезы толщиной 1–2 мкм с последующим контрастированием в растворах уранилацетата и цитрата свинца согласно методике E. Reynolds. Изучение срезов, их фотографирование с целью получения электронограмм, проводили с помощью электронного микроскопа EM-125.

Результаты

В группе КД на третьи сутки наблюдения в щитовидной железе преобладали кубические тироциты. Контуров ядра

были волнообразные, эухроматин располагался только в центре кариоплазмы среди глыбок неактивного хроматина. Полости гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС) были в некоторых участках умеренно расширены. Со стороны коллоида в цитоплазме клетки определялось несколько секреторных гранул и лизосом, а микроворсинки были низкими. Преимущественно в базальных отделах цитоплазмы тироцитов выявлялись немногочисленные митохондрии. В поздние сроки среди кубической формы клеток встречаются и цилиндрические тироциты. Границы округлых или овальных ядер имели извилистые контуры на небольшом протяжении. Выявлялись типичного строения митохондрии, а цистерны ГЭС на небольших участках были умеренно расширены. На поверхности клетки со стороны коллоида определялись средних размеров микроворсинки, немного лизосом и секреторных гранул.

В группе ТД на третьи сутки наблюдения тироциты щитовидной железы имели кубическую, реже призматическую или плоскую форму. Следует отметить, что в одном фолликуле могли встречаться клетки разной формы. Ядро тироцитов, в зависимости от формы клеток, могло быть округлой или овальной формы, в обоих случаях с неровными контурами. Гетерохроматин распределялся диффузно в кариоплазме и занимал большую часть ядра. Цитоплазма заполнялась «лабиринтами» из расширенных цистерн ГЭС с мелкозернистым содержимым умеренной электронной плотности. Наблюдались митохондрии с частично разрушенными участками матрикса. Встречались лизосомы разных размеров. В поле зрения появлялись клетки с признаками апоптоза. Секреторные гранулы встречались редко. Микроворсинки были короткие и располагались редко на апикальной поверхности клеток. К 24-м суткам наблюдения в поле зрения начинают преобладать клетки кубической формы. Неактивный хроматин, преимущественно, размещался на периферии ядра. Митохондрии были овальной или округлой формы, с разрушенным матриксом в единичных случаях, а цистерны ГЭС неравномерно расширены.

В группе ТД+НС наблюдалась позитивная динамика изменений: в ранние сроки наблюдения ядро имело небольшие волнистые границы с углублениями, участки эухроматина нечётко визуализировались. Цистерны ГЭС были незначительно расширены. Лизосомы разных размеров располагались небольшими группами в цитоплазме, встречались единичные секреторные гранулы. В поздние сроки наблюдения в центральной части кариоплазмы располагался, преимущественно, эухроматин (рис. 1).

Обсуждение

Базируясь на исследовании, проведённом автором ранее, известно, что использование пищевого красителя в разных концентрациях на ранних сроках наблюдения приводит к ультраструктурным изменениям, связанным с гипофункцией тироцитов (через повреждение генетического материала клетки, оксидативный стресс) [5]. Учитывая хорошо известный принцип «эндокринной петли» обратной связи, концентрация тиреотропного гормона (ТТГ) возрастает, что приводит к гипертрофии и пролиферации

тироцитов, находящихся в гипофункции [7, 8]. Необходимо также отметить, что тартразин может непосредственно повреждать ДНК, нарушая клеточный цикл, через задержку и формирование веретена деления [9], поэтому можно предположить, что тироциты кубической формы, несмотря на их гипофункцию, вероятнее всего характеризуются снижением их митотической активности. Данные литературы также свидетельствуют о том, что тартразин способен повышать внутриклеточный уровень натрия и меди, уменьшая при этом в плазме концентрацию железа, вызывая анемию, цинка и меди, что также может быть сопряжено с нарушением функции пищеварительной системы [8, 9]. Считается, что одной из причин, вызывающих гипертрофию тироцитов на фоне длительной их гипофункции, является нарушение работы Na^+/K^+ насоса из-за дефицита аденозинтрифосфата (АТФ) и нарушения структуры клеточной мембраны, вызванного повреждающим фактором [10, 11]. С другой стороны, патологические факторы разной этиологии могут приводить к синтезу изменённых тиреоглобулинов, которые неправильно сворачиваются и захватываются ГЭС, что приводит к развитию так называемого «стресса ГЭС» и как следствие гипотиреозу. Морфологически это проявляется в виде отёка данной органеллы. При этом тироциты способны восстанавливать метаболизм гормонов после прекращения воздействия патологического фактора, а скорость восстановления связана с концентрацией повреждающего агента и длительностью его воздействия [7]. Пищевой краситель также активизирует процессы апоптоза (через экспрессию P53, CASP-3, CASP-9) [12]. Из работ исследователей известно, что травма костной ткани в ранние сроки наблюдения вызывает оксидативный стресс [13], практически не влияет на уровень ТТГ, но при этом уменьшает уровень T_4 и T_3 , в том числе снижая активность дейодиназы (фермент необходимый для превращения T_4 в T_3) [2, 14]. Это пролонгирует гипофункцию и гипертрофию тироцитов, несмотря на прекращение приема тартразина (проявляется в виде растянутых канальцев ГЭС, отёка митохондрий, единичных секреторных гранул, низких микроворсинок, преобладания неактивного хроматина в ядре).

Базируясь на изменениях, вызванных тартразином, с целью их коррекции перед нанесением дефекта в кости, принято решение остановиться на селеносодержащем препарате – натрии селените. Селен способен интегрироваться в виде селеноцистеина в первичную структуру некоторых селенопротеинов (глутатионпероксидаза, дейодиназа, тиоредоксин редуктаза). В свою очередь глутатионпероксидаза и тиоредоксин редуктаза участвуют в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза, а дейодиназа преобразует T_4 в T_3 (дейодиназа 1-го и 2-го типов) или же инактивирует T_3 (дейодиназа 3-го типа) [15]. Также селен способен координировать экспрессию гена CASP-3 и CASP-9, ответственных за запуск митохондриального пути апоптоза [16]. Это позволяет объяснить уменьшение амплитуды изменений в группе ТД+НС, вызванное тартразином и нанесением дефекта, по сравнению с группой ТД.

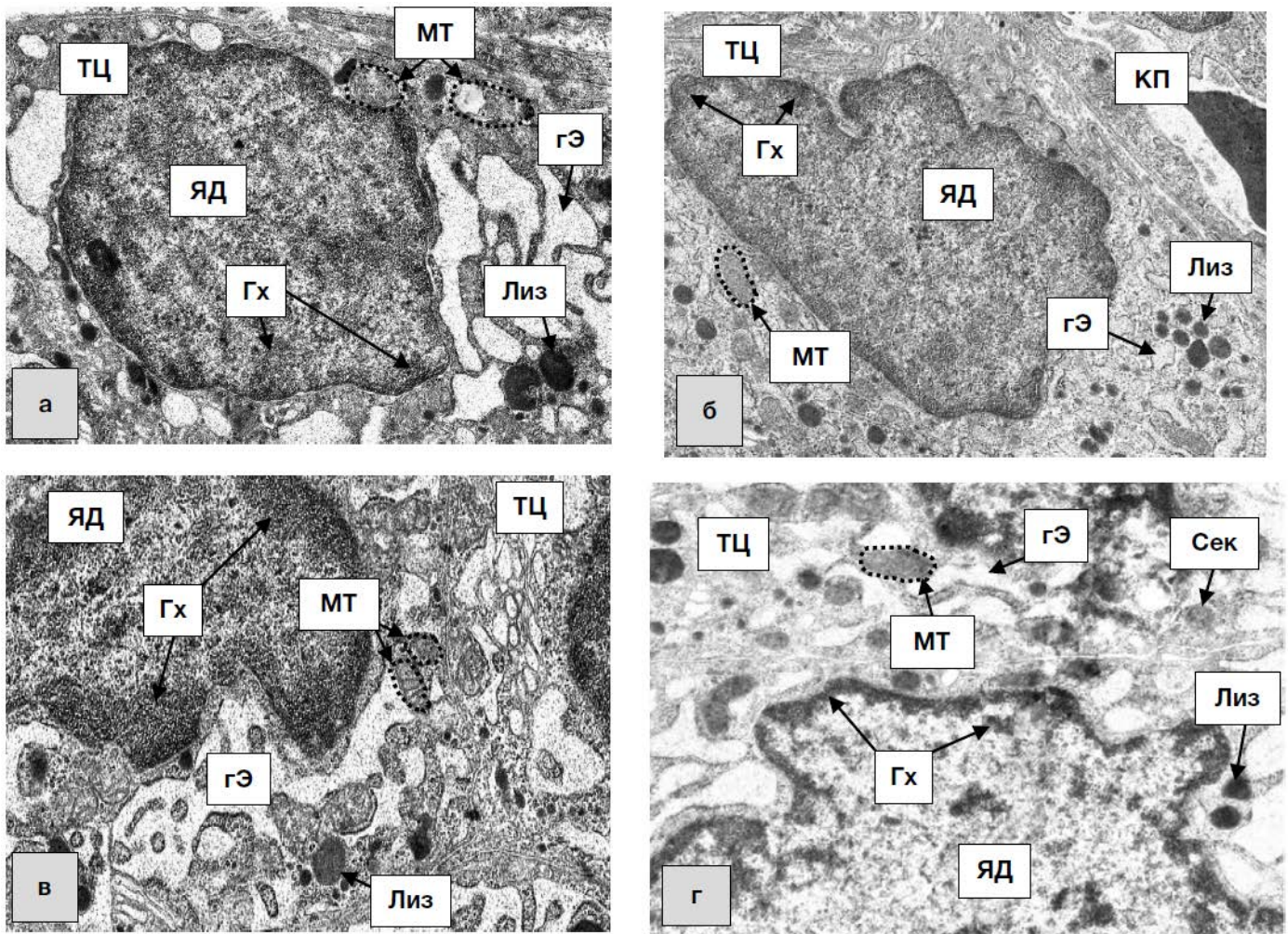


Рисунок 1. Ультрамикроскопическое строение тироцитов половозрелых животных на третьи сутки наблюдения: а – группа ТД, б – группа ТД+НС) и на 24 сутки (в – группа ТД, г – группа ТД+НС): ТЦ – фолликулярная клетка, ЯД – ядро, Гх – гетерохроматин, гЭ – гранулярная эндоплазматическая сеть, МТ – митохондрии, Лиз – лизосомы, Сек – секреторные гранулы, КП – капилляр. Увеличение $\times 8000$
Figure 1. Ultramicroscopic structure of thyroid thyrocytes in mature animals on the third day of observation: а – TD group, б – TD+NS group) and on the 24th day (с – TD group, д – TD+NS group): TF – follicular cell, ND – nucleus, Hx – heterochromatin, GE – granular endoplasmic reticulum, MT – mitochondrion, Lys – lysosomes, Sec – secretory granules, CP – capillary. Magnification $\times 8000$

Выводы

1. Моделирование травмы кости путем нанесения дефекта сопровождается развитием ультрамикроскопических изменений тироцитов щитовидной железы крыс, которые указывают на снижение их секреторной активности. Данная реакция несет адаптационный характер и направлена на поддержание оптимального уровня анаболизма и сокращение энергозатрат организма.

2. В случае, когда травматическое воздействие осуществляется в период после предшествующей 60-дневной интоксикации тартразином в дозе 750 мг/кг, зарегистрировано усугубление ультрамикроскопических изменений тироцитов по сравнению с группой КД. Это связано с тем,

что к моменту нанесения травмы ультраструктура тироцитов, а, следовательно, и её функциональная активность уже изменена в сторону гипofункции, и последующее травматическое воздействие ещё больше нарушает морфологию данных клеток.

3. Введение натрия селенита на фоне 60-дневного воздействия тартразина позволяет, в определенной степени, нивелировать вызываемые им ультрамикроскопические изменения тироцитов к моменту травматического воздействия. В связи с этим, в последующем периоде реадaptации ультрамикроскопические изменения клеток выражены меньше и сглаживаются быстрее, чем в группе ТД.

Литература [References]

- 1 Миронов СП, Еськин НА, Андреева ТМ, Огрызко ЕВ, Шелепова ЕА. Динамика травматизма среди взрослого населения Российской Федерации. *Вестник травматологии и ортопедии им Н.Н. Приорова*. 2019;(3):5-13. <https://doi.org/10.17116/vto20190315> [Mironov SP, Es'kin NA, Andreeva TM, Ogryzko EV, Shelepova EA. Dynamics of traumatism in adult population of the Russian Federation. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2019;(3):5-13. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/vto20190315>]
- 2 Gibson SC, Hartman DA, Schenck JM. The Endocrine Response to Critical Illness: Update and Implications for Emergency Medicine. *Emerg Med Clin N Am*. 2005;23:909-29. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2005.03.015> PMID: 15982552

- 3 Sambu S, Hemaram U, Murung R, Alsofi AA. Toxicological and Teratogenic Effect of Various Food Additives: An Updated Review. *Biomed Res Int.* 2022;2022:6829409. <https://doi.org/10.1155/2022/6829409> PMID: 35782077
- 4 Rovina K, Siddiquee S, Shaarani SM. A Review of Extraction and Analytical Methods for the Determination of Tartrazine (E 102) in Foodstuffs. *Crit Rev Anal Chem.* 2017;47(4):309-324. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1287558> PMID: 28128965
- 5 Морозов ВН. Влияние 60-дневного введения тартразина в различных дозах на ультраструктуру фолликулярных клеток щитовидной железы. *Медицинская наука и образование Урала.* 2022;23(4):76-79. https://doi.org/10.36361/18148999_2022_23_4_76 [Morozov VN. Effect of 60-day administration of tartrazine in various doses on the ultrastructure of rat's thyroid gland follicular cells. *Medical Science and Education of Ural.* 2022;23(4): 76-79. (in Russ.). https://doi.org/10.36361/18148999_2022_23_4_76]
- 6 Лузин ВИ, Ивченко ДВ, Панкратьев АА. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных. *Український медичний альманах.* 2005;8(2):162. [Luzin VI, Ivchenko DV, Pankrat'ev AA. Method for modeling a bone defect in laboratory animals. *Ukrainian Medical Almanac.* 2005;8(2):162. (in Russ.)]
- 7 Morishita Y, Kabil O, Young KZ, Kellogg AP, Chang A, Arvan P. Thyrocyte cell survival and adaptation to chronic endoplasmic reticulum stress due to misfolded thyroglobulin. *J. Biol. Chem.* 2020;295(20):6876-6887. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.012656> PMID: 32241916
- 8 Shakoor S, Ismail A, Zia-Ur-Rahman, Sabran MR, Bekhit AEDA, Roohinejad S. Impact of tartrazine and curcumin on mineral status, and thyroid and reproductive hormones disruption in vivo. *International Food Research Journal.* 2022;29(1): 186-199. <http://doi.org/10.47836/ifrj.29.1.20>
- 9 Dos Santos JR, de Sousa Soares L, Soares BM, de Gomes Farias M, de Oliveira VA, de Sousa NAB, et al. Cytotoxic and mutagenic effects of the food additive tartrazine on eukaryotic cells. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2022;23:95 <https://doi.org/10.1186/s40360-022-00638-7> PMID: PMC9789615
- 10 Al-Seenia MN, El Rabeyb HA, Al-Hameda AM, Zamazami MA. Nigella sativa oil protects against tartrazine toxicity in male rats. *Toxicology Reports.* 2018;5:146-155. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.022> PMID: PMC5977377
- 11 Elkalawy SAM, Abo-Elnoor RK, El Deeb DF, Yousry MM. Histological and immunohistochemical study of the effect of experimentally induced hypothyroidism on the thyroid gland and bone of male albino rats. *The Egyptian Journal of Histology.* 2013;36(1):92-102. <https://doi.org/10.1097/01.EHX.0000424169.63765.ac>
- 12 El-Desoky GE, Wabaidur SM, AlOthman ZA, Habila MA. Regulatory Role of Nano-Curcumin against Tartrazine-Induced Oxidative Stress, Apoptosis-Related Genes Expression, and Genotoxicity in Rats. *Molecules.* 2020;25(24):5801. <https://doi.org/10.3390/molecules25245801> PMID: PMC7763955
- 13 Sandukji A, Al-Sawaf H, Mohamadin A, Alrashidi Y, Sheweita SA. Oxidative stress and bone markers in plasma of patients with long-bone fixative surgery: Role of antioxidants. *Human and Experimental Toxicology.* 2010;30(6):435-442. <https://doi.org/10.1177/0960327110374203> PMID: 20534639
- 14 Ajagallay S, Mane ShK, Singh G. Association of the serum-free T3 and T4 hormones in severe traumatic injury. *Int Surg J.* 2018;5(6):2195-2198. <http://dx.doi.org/10.18203/2349-2902.isj20182221>
- 15 Cațianis AG, Virgolici B, Dogaru BC, Virgolici H, Mohora M. From selenium to selenoproteins and their role – minireview. *Acta Medica Transilvanica.* 2020;25(3):56-59. <https://doi.org/10.2478/amtsb-2020-0052>
- 16 Li S, Sun W, Zhang K, Zhu J, Jia X, Guo X, et al. Selenium deficiency induces spleen pathological changes in pigs by decreasing selenoprotein expression, evoking oxidative stress, and activating inflammation and apoptosis. *J Anim Sci Biotechnol.* 2021;12(1):65. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00587-x> PMID: PMC8127211

Авторская справка**Морозов Виталий Николаевич**

Канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 308036, Белгород, Губкина, 50.
ORCID 0000-0002-1169-4285; morozov_v@bsu.edu.ru

Вклад автора: формулирование концепции исследования, получение экспериментальных данных.

Лузин Владислав Игоревич

Д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Луганский государственный медицинский университет им. Святого Луки, 91045, Луганск, квартал 50-летия Обороны Луганска, 1Г.
ORCID 0000-0001-8983-2257; vladyslav_luzin@mail.ru

Вклад автора: анализ экспериментальных данных, формулирование выводов работы.

Author's reference**Vitaly N. Morozov**

Cand. Sci. (Med.), Docent, Associate Professor, Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod State National Research University, 50 Gubkina, 308036, Belgorod.

ORCID 0000-0002-1169-4285; morozov_v@bsu.edu.ru

Author's contribution: formulation of the research concept, obtaining experimental data.

Vladislav I. Luzin

Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Lugansk State Medical University named after St. Luke, 1G quarter of the 50th anniversary of the Defense, 91045, Lugansk.

ORCID 0000-0001-8983-2257; vladyslav_luzin@mail.ru

Author's contribution: analysis of experimental data, formulation of the conclusions of the work.