

СОДЕРЖАНИЕ РЕТИНОЛА И α -ТОКОФЕРОЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ПЕЧЕНИ У КРЫС

И. А. Кондратович, Я. И. Новогородская, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук,
О. Б. Островская, И. Э. Гуляй, С. Я. Шалесная, М. Н. Курбат, В. М. Цыркунов
Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Содержание ретинола и α -токоферола в организме человека влияет на развитие и прогрессирование хронических заболеваний печени и связано с функционированием перисинусоидальных липоцитов (HSC) и состоянием биологических мембран.

Цель исследования – оценить содержание ретинола и α -токоферола в плазме крови и ткани печени в динамике экспериментального фиброза печени у крыс.

Материал и методы. Моделирование фиброза/цирроза печени проводили на половозрелых крысах-самцах путем внутрибрюшинного введения раствора тиоацетамида (ТАА) в дозе 200 мг/кг через день в течение 4 и 12 недель. Контрольная группа животных получала эквивалентное количество физиологического раствора. Концентрацию α -токоферола и ретинола определяли по методу S. L. Taylor.

Результаты. В препаратах печени крыс через 4 недели после введения животным раствора ТАА наблюдались признаки FII-III стадии фиброза. По данным электронной микроскопии, HSC находились в переходном состоянии и приобретали более вытянутую форму, в их цитоплазме уменьшалось количество липидных включений. Введение ТАА на протяжении 12 недель привело к формированию цирроза печени у крыс, с характерными макро- и микроскопическими изменениями. При световой микроскопии в препаратах печени крыс через 3 месяца после введения ТАА количество HSC уменьшилось, встречались активированные HSC, которые приобретали вытянутую форму и теряли липидные включения. Содержание ретинола во 2 группе животных (с фиброзом печени II-III стадии) было в 2,2 раза выше, чем в контрольной группе, и в 1,8 раза выше, чем в 3 группе при циррозе печени ($p < 0,05$). Содержание ретинола в ткани печени через 4 недели введения ТАА уменьшилось на 11,7%, через 12 недель – в 1,5 раза. Уровень α -токоферола в печени на стадии фиброза FII-III снизился на 21% по сравнению с контролем, на стадии цирроза – в 2 раза.

Заключение. Введение тиоацетамида крысам в течение 1 и 3 месяцев приводит к развитию фиброза и цирроза печени. Снижение содержания ретинола и α -токоферола в печени происходит по мере прогрессирования фиброза/цирроза печени. Высокое содержание ретинола и α -токоферола в плазме на стадии фиброза печени FII-III обусловлено дегрануляцией (активацией) HSC.

Ключевые слова: модель фиброза/цирроза, ретинол, α -токоферол.

THE CONTENT OF RETINOL AND α -TOCOPHEROL IN EXPERIMENTAL LIVER FIBROSIS IN RATS

I. A. Kondratovich, Ya. I. Novogrodskaya, V. P. Andreev, R. I. Kravchuk, A. B. Ostrovskaya, I. E. Gulyai, S. Ya. Shalesnaya, M. N. Kurbat, V. M. Tsyrcunov
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Background. The content of retinol and α -tocopherol in the human body affects the development and progression of chronic liver diseases and is associated with the functioning of perisinusoidal lipocytes (HSC) and the state of biological membranes.

Objective – to evaluate the content of retinol and α -tocopherol in blood plasma and liver tissue in the dynamics of experimental liver fibrosis in rats.

Material and methods. Modeling of liver fibrosis / cirrhosis was carried out on sexually mature male rats by intraperitoneal administration of thioacetamide (TAA) solution at a dose of 200 mg / kg every other day for 4 and 12 weeks. The control group of animals received an equal volume of saline. The concentration of α -tocopherol and retinol was determined by S.L. Taylor's method.

Results. In rat liver preparations, 4 weeks after administration of TAA solution to animals, signs of FII-III stage of fibrosis were observed. According to electron microscopy, HSCs were in a transitional state and acquired a more elongated shape; the number of lipid inclusions in their cytoplasm decreased. The administration of TAA for 12 weeks led to the formation of liver cirrhosis in rats, with characteristic macro- and microscopic changes. On light microscopy, the number of HSCs decreased in rat liver preparations 3 months after administration of TAA; activated HSCs were encountered, which acquired an elongated shape and lost lipid inclusions. The content of retinol in the 2nd group of animals (with liver fibrosis stage II-III) was 2.2 times higher than in the control group, and 1.8 times higher than in the 3rd group with liver cirrhosis ($p < 0.05$). The content of retinol in the liver tissue after 4 weeks of TAA administration decreased by 11.7%, after 12 weeks - by 1.5 times. The level of α -tocopherol in the liver at the stage of fibrosis FII-III decreased by 21% compared with the control group, at the stage of cirrhosis - by 2 times.

Conclusion. The use of thioacetamide in rats for 1 and 3 months leads to the development of liver fibrosis and cirrhosis. A decrease in the content of retinol and α -tocopherol in the liver occurs with the progression of liver fibrosis /

cirrhosis. The high content of retinol and α -tocopherol in plasma at the stage of liver fibrosis FII-III is due to degranulation (activation) of HSC.

Keywords: *fibrosis / cirrhosis model, retinol, α -tocopherol.*

Автор, ответственный за переписку:

Кондратович Ирина Анатольевна; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: iriskak22@mail.ru

Corresponding author

Kondratovich Irina; Grodno State Medical University; e-mail: iriskak22@mail.ru

Для цитирования:

Содержание ретинола и α -токоферола при экспериментальном фиброзе печени у крыс / И. А. Кондратович, Я. И. Новогородская, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук, О. Б. Островская, И. Э. Гуляй, С. Я. Шалесная, М. Н. Курбат, В. М. Цыркунов // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. Т. 4, № 2. С. 196-200. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-196-200>.

For citation:

Kondratovich A, Novogrodskaya Ya, Andreev VP, Kravchuk RI, Ostrovskaya B, Gulyai IE, Shalesnaya SYa, Kurbat MN, Tsyrkunov VM. Content of retinol and α -tocopherol in experimental liver fibrosis in rats. *Hepatology and Gastroenterology*. 2020;4(2):196-200. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-196-200>.

Введение

Ретинол в организме человека в основном содержится в печени, накапливаясь в липидных включениях перисинусоидальных липоцитов (HSC), принимающих непосредственное участие в развитии фиброза печени. В физиологических условиях HSC находятся в состоянии покоя, играют ключевую роль в синтезе внеклеточного матрикса (ECM), а также регулируют регенерацию печени [1]. При патологических состояниях HSC активируются постоянной стимуляцией при повреждении печени, что приводит к усиленной пролиферации, уменьшению количества липидных включений и повышенному синтезу ECM. Морфология этих клеток также изменяется от звездчатых клеток до миофибробластов с секрецией определенных цитокинов и хемокинов, включая различные провоспалительные факторы и молекулы адгезии, что позволяет предположить, что активация HSC – одно из ключевых событий при развитии фиброза печени [2]. Установлено, что низкий уровень ретинола в печени, обусловленный нарушением его метаболизма под действием гепатотоксинов, является фактором риска развития фиброза печени [3].

Как и ретинол, α -токоферол – жирорастворимый витамин, локализуемый в гидрофобном слое биологических мембран и представляющий собой мощный антиоксидант и цитопротектор, подавляющий избыточную активацию HSC путем снижения активности свободно-радикального окисления липидов [4, 5]. Печеночный белок – переносчик α -токоферола – предпочтительно выбирает диетический α -токоферол и способствует его транспортировке через гепатоциты и его секреции в кровотоки [6].

Моделирование фиброза печени в эксперименте чаще выполняется на разных моделях с проведением у крыс лигирования желчных протоков, применением этанола, тиацетамида или четыреххлористого углерода [7].

Для раскрытия механизмов развития фиброза печени в эксперименте нами выбрана тиацетамидная модель, которая по сравнению с другими экспериментальными моделями (этаноловой, тетрахлорметановой, ацетаминофеновой и пр.)

хорошо воспроизводима и позволяет достигнуть формирования у крыс разных стадий фиброза печени, включая цирроз, в зависимости от длительности введения препарата [8, 9].

Цель исследования – оценить содержание ретинола и α -токоферола в плазме крови и ткани печени в динамике экспериментального фиброза печени у крыс.

Материал и методы

Моделирование фиброза/цирроза печени проводили на половозрелых крысах-самцах путем внутрибрюшинного введения раствора тиацетамида (TAA) в дозе 200 мг/кг через день в течение 4 и 12 недель. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество физиологического раствора [10]. Крысы были разделены на 3 группы: 1 группе (контроль, n=16) внутрибрюшинно вводился раствор NaCl 0,9% в дозе 10 мл/кг, на протяжении 12 недель; 2 группе (n=8) вводился раствор TAA на протяжении 4 недель; 3 группа (n=18) получала раствор TAA на протяжении 12 недель. В ходе эксперимента погибло 2 животных из 3 группы, что было связано с процедурой введения препаратов.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации спустя 4 недели (2 группа) и 12 недель (1 и 3 группы) от начала эксперимента, извлекали печень, готовили гистологические срезы, проводили морфологическую оценку выраженности фиброза в динамике.

Для изучения содержания витаминов в ткани печени 1 и 3 группы разделили на 2 подгруппы (перфузированная и неперфузированная), т. е. у половины крыс 1 и 3 групп (по 8 животных) после декапитации печень подвергли перфузии физиологическим раствором, у оставшихся животных (по 8) перфузия печени не проводилась. У крыс 2 группы перфузия печени не проводилась из-за небольшого количества животных в данной группе.

Полученные препараты печени исследовались при помощи световой и электронной микроскопии. Для оценки структурно-функциональной характеристики HSC методом световой микроскопии полутонкие срезы печени последовательно окрашивали азур II-основным фуксином.

Для получения гомогенатов образцы печени массой 200 мг измельчали в гомогенизаторе (стекло/тефлон) при 4000 об/мин в 1,8 мл холодном 0,01 М калий-фосфатном буфере, pH 7,38, содержащем 137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 10 мМ Na₂HPO₄, 1,76 мМ KH₂PO₄, 1 мМ ЭДТА, далее гомогенаты хранили в холодильнике (4°C) до процедуры проведения методики.

Концентрацию α-токоферола и ретинола определяли по методу S. L. Taylor [11], основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны возбуждения 286 нм и испускания 330 нм (для α-токоферола) и при длине волны возбуждения 325 нм и испускания 470 нм (для ретинола) на спектрофлуориметре CM 2203 («СОЛАР», Беларусь). В контрольную пробу вместо исследуемого материала вносили аликвоту бидистиллированной воды, а в стандартную – рабочего раствора, приготовленного из стандартов α-токоферола и ретинола («Sigma»). Концентрацию α-токоферола и ретинола в плазме выражали в мкмоль/л, в гомогенатах – мкмоль/г ткани. Эксперимент проведен в соответствии с правилами и нормами гуманного обращения с животными, одобрен комитетом по биомедицинской этике ГрГМУ.

Обработка результатов проводилась с использованием стандартной лицензионной программы Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение

В препаратах крыс контрольной группы через 12 недель после введения физиологического раствора морфологические признаки фиброза отсутствовали (рис. 1).

HSC встречались в основном в неактивном состоянии, о чем свидетельствовали их округлая или немного вытянутая форма, крупное ядро и наличие в цитоплазме большого количества липидных включений, плотно прилежащих друг к другу.

В препаратах печени крыс через 4 недели после внутрибрюшинного введения (через день) животным раствора ТАА наблюдались признаки FII-III стадии фиброза. По данным электронной микроскопии, HSC находились в переходном состоянии и приобретали более вытянутую форму, в их цитоплазме уменьшалось количество липидных включений (рис. 2).

Введение ТАА на протяжении 12 недель привело к формированию цирроза печени у крыс с характерными макро- и микроскопическими изменениями (рис. 4). При световой микроскопии в препаратах печени крыс через 3 месяца после введения ТАА количество HSC уменьшилось, в основном встречались активированные HSC. Такие клетки приобретали вытянутую форму и теряли липидные включения, либо их количество в цитоплазме уменьшалось до 1-3 капелек (рис. 3 и 4).

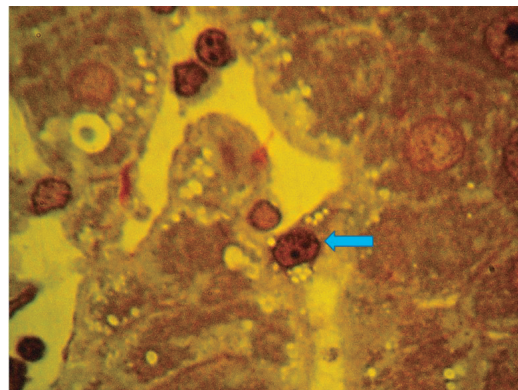


Рисунок 1. – Контрольная группа: фиброз отсутствует; HSC в неактивном состоянии (стрелка), с большим содержанием липидных капелек. Полутонкий срез. Окраска азур II-основной фуксин, ×1000

Figure 1. – Control group: no fibrosis; HSC in an inactive state (arrow), with a high content of lipid droplets. Semi-thin slice. Coloring azure II-basic fuchsin, ×1000

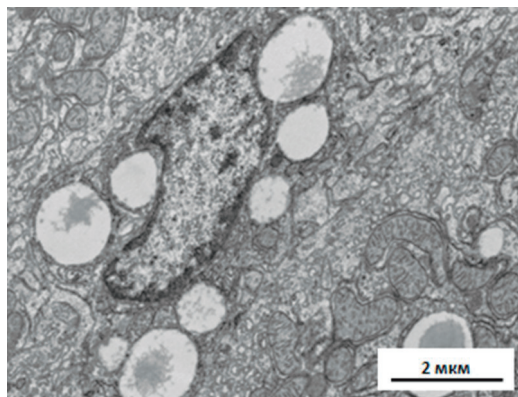


Рисунок 2. – HSC в переходном состоянии: форма удлинённая, содержит малое количество липидных капелек. Электроннограмма

Figure 2. – HSC in transition: elongated shape, contains a small amount of lipid droplets. Electronogram

При сравнении содержания ретинола в плазме крыс в наблюдаемых группах установлено, что во 2 группе животных (с фиброзом печени II-III стадии) его содержание было в 2,2 раза выше, чем в контрольной группе, и в 1,8 раза выше, чем в 3 группе при циррозе печени ($p < 0,05$). С другой стороны, не было достоверного различия в содержании ретинола в плазме между группами цирроза печени и контролем (табл. 1).

Таблица 1. – Содержание ретинола и α-токоферола в плазме (мкмоль/л) крыс при тиоацетамидном поражении печени

Table 1. – The content of retinol and α-tocopherol in plasma (μmol / l) of rats with thioacetamide liver damage

Показатели	Группы		
	1-я, контроль, n=16	2-я, фиброз II-III, n=8	3-я, цирроз, n=16
Ретинол	0,9±0,05	2,0±0,11* **	1,1±0,11**
α-токоферол	15,2±1,16	15,9±1,19	13,5±1,26

Примечание: * – статистически достоверные различия в сравнении с контролем ($p < 0,05$); ** – статистически достоверные различия между группами 2 и 3 ($p < 0,05$)

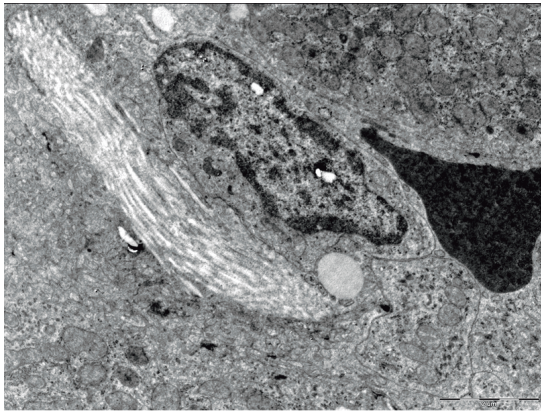


Рисунок 3. – HSC в активированном состоянии: форма резко удлинённая, минимальное количество липидных капель, плотный контакт с крупным пучком коллагеновых волокон. Электроннограмма. $\times 12000$
Figure 3. – HSC in an activated state: sharply elongated shape, minimal amount of lipid droplets, tight contact with a large bundle of collagen fibers. Electronogram. $\times 12000$

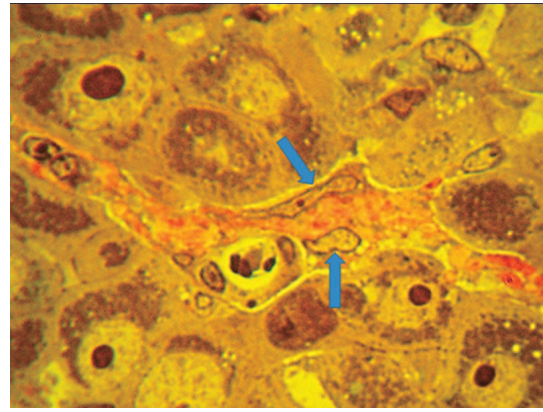


Рисунок 4. – Клетки (стрелки), фенотипически подобные активированным HSC (миофибробласты), в разрастающейся соединительной ткани. Полутоноккий срез. Окраска азур II – основной фуксин, $\times 1000$
Figure 4. – Cells (arrows) are phenotypically similar to activated HSCs (myofibroblasts) in the expanding connective tissue. Semi-thin slice. Coloring azure II-basic fuchsin, $\times 1000$

Содержание α -токоферола в плазме животных в сравниваемых группах, независимо от стадии фиброза печени, не имело достоверных различий.

Содержание ретинола в ткани печени представлено в таблице 2. Оценивалась достоверность различий результатов исследования в сопоставимых группах (перфузии и неперфузии).

Как видно из таблицы 2, результаты исследования ретинола и α -токоферола различались по содержанию и направленностью в сторону снижения в перфузированной и неперфузированной печени в динамике введения ТАА (прогрессирования фиброза). Содержание ретинола в ткани печени снижалось с прогрессированием фиброза печени: через 4 недели введения ТАА количество ретинола в печени уменьшилось на 11,7%, через 12 недель – практически в 1,5 раза.

Аналогичные изменения наблюдались и в содержании α -токоферола в печени: его уровень на стадии фиброза печени FII-III снизился почти на 21% по сравнению с контрольной группой, на стадии цирроза – в 2 раза.

Отмеченное увеличение содержания α -токоферола в ткани печени после проведения перфузии, вероятно, было связано с разрушением

биологических мембран в процессе проведения перфузии печени и высвобождением из них дополнительного количества α -токоферола, в отличие от ретинола, который практически полностью (не менее 80%) локализуется в липидных включениях HSC печени [1].

Схожие результаты при оценке содержания ретинола в печени получены другими исследователями при моделировании цирроза печени у животных тетрахлоридом углерода и тиоацетамидом. Уменьшение содержания ретинальдегида и общего ретинола вместе с увеличением ретиноевой кислоты было одинаково в печени у крыс, получавших как тетрахлорид углерода, так и тиоацетамид, в течение месяца после начала эксперимента. По мнению авторов, причиной снижения содержания ретинола стала низкая активность ферментов (ретинальдегидоксидазы, ретинальдегиддегидрогеназы и ретинальдегидредуктазы), участвующих в метаболизме ретиноидов. Параллельно с этим уровни ретинола и ретинальдегида в сыворотке крови повышались, что свидетельствует о том, что во время развития цирроза происходит реципрокный перенос метаболитов ретиноидов между кровообращением и печенью [12].

Таблица 2. – Содержание ретинола и α -токоферола в ткани печени (мкмоль/г) крыс при тиоацетамидном поражении печени

Table 2. – The content of retinol and α -tocopherol in the liver tissue ($\mu\text{mol} / \text{g}$) of rats with thioacetamide liver damage

Показатели	Группы				
	1-я, неперфуз., n=8	1-я, перфуз., n=8	2-я, неперфуз., n=8	3-я, неперфуз., n=8	3-я, перфуз., n=8
Ретинол	10,3 \pm 0,08	10,3 \pm 0,12	9,1 \pm 0,35* **	7,2 \pm 0,57* **	6,9 \pm 0,66*
α -токоферол	105,4 \pm 5,49***	171,3 \pm 11,26***	83,2 \pm 5,28* **	51,7 \pm 4,69* **	73,2 \pm 10,85*

Примечание: * – статистически достоверные различия в сравнении с контролем в сопоставимых группах ($p < 0,05$); ** – статистически достоверные различия между группами 2 и 3 (неперфуз.) ($p < 0,05$); *** – статистически достоверные различия между перфузированной и неперфузированной подгруппами контрольной группы ($p < 0,05$)

В связи с отсутствием сильной корреляции между параметрами α -токоферола печени и крови у взрослых пациентов с разными заболеваниями печени, ряд авторов считают, что печёночный α -токоферол присутствует в аналогичных концентрациях в триглицеридах, а также в общем холестерине и фосфолипидах, а соотношение α -токоферол/общая концентрация липидов (Тос / TL) в плазме и концентрация α -токоферола в эритроцитах не являются

полезными индикаторами статуса витамина Е в печени [13].

Выводы

1. Введение тиаоацетамида крысам по приведенной схеме в течение 1 и 3 месяцев приводит к развитию фиброза печени разных стадий, вплоть до цирроза печени.

2. Снижение содержания ретинола и α -токоферола в печени происходит по мере прогрессирования фиброза/цирроза печени.

3. Высокое содержание ретинола и α -токоферола в плазме на стадии фиброза печени FII-III обусловлено дегрануляцией (активацией) HSC.

References

1. Tsyrukunov V, Andreev V, Kravchuk R, Kandratovich I. Ito stellate cells (hepatic stellate cells) in diagnosis of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol Open Access*. 2019;10(4):213-219. doi: 10.15406/ghoa.2019.10.00384.
2. Li Y, Jiang Y. Update on isolation and functional research of hepatic stellate cells. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. 2014;30(7):1059-1072.
3. Seifert WF, Bosma A, Brouwer A, Hendriks HF, Roholl PJ, van Leeuwen RE, van Thiel-de Ruiter GC, Seifert-Bock I, Knook DL. Vitamin A deficiency potentiates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Hepatology*. 1994;19(1):193-201.
4. Galli F, Azzi A, Birringer M, Cook-Mills JM, Eggensdorfer M, Frank J, Cruciani G, Lorkowski S, Özer NK. Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radic Biol Med*. 2017;102:16-36. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.09.017.
5. Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis*. 2001;21(3):311-335. doi: 10.1055/s-2001-17550.
6. Chung S, Ghelfi M, Atkinson J, Parker R, Qian J, Carlin C, Manor D. Vitamin E and Phosphoinositides Regulate the Intracellular Localization of the Hepatic α -Tocopherol Transfer Protein. *J Biol Chem*. 2016;291(33):17028-17039. doi: 10.1074/jbc.M116.734210.
7. Görtzen J, Schierwagen R, Bierwolf J, Klein S, Uschner FE, van der Ven PF, Fürst DO, Strassburg CP, Laleman W, Pollok J-M, Trebicka J. Interplay of Matrix Stiffness and c-SRC in Hepatic Fibrosis. *Front Physiol*. Interplay of Matrix Stiffness and c-SRC in Hepatic Fibrosis. *Front Physiol*. 2015;6:359. doi: 10.3389/fphys.2015.00359.
8. Shea SM, Manseau EJ. Experimental toxic cirrhosis in the rat. II. Kinetics of hepatocyte proliferation during intermittent thioacetamide intoxication. *Am J Pathol*. 1968;52(1):55-68.
9. Kleinfeld RG, Von Haam E. The effect of thioacetamide on rat liver regeneration. I. Cytological studies. *Cancer Res*. 1959;19:769-778.
10. Novogrodskaya Ya, Astrowskaja A, Kravchuk R, Doroshenko Ye, Huliai I, Aleschyk A, Shalesnaja S, Kurbat M. Sposob modelirovaniya jeksperimentalnogo tiaoacetamidnogo porazhenija pecheni u krys [The method of modelling of experimental thioacetamide liver damage in rats]. *Gepatologija i gastrojenterologija* [Hepatology and gastroenterology]. 2020;4(1):90-95. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95>. (Russian).
11. Taylor SL, Lamden MP, Tappel AIL. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids*. 1976;11(7):530-538.
12. Natarajan SK, Thomas S, Ramachandran A, Pulimood AB, Balasubramanian KA. Retinoid metabolism during development of liver cirrhosis. *Arch Biochem Biophys*. 2005;443(1-2):93-100. doi: 10.1016/j.abb.2005.09.008.
13. Nagita A, Ando M. Assessment of hepatic vitamin E status in adult patients with liver disease. *Hepatology*. 1997;26(2):392-397. doi: 10.1002/hep.510260220.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Сведения об авторах:

Кондратович Ирина Анатольевна; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: iriskak22@mail.ru

Новгородская Яна Иосифовна; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: yanapovogrodskaya@mail.ru; ORCID: 0000-0001-9505-6717

Андреев Виктор Павлович, канд. биол. наук., проф.; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: andrvp@yandex.ru

Кравчук Римма Ивановна, канд. биол. наук.; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: rimma.kravchuk@yandex.ru

Островская Оксана Борисовна, канд. мед. наук, доц.; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: astrowskaja@gmail.com;

Гуляй Ирина Эдвардовна, канд. биол. наук., Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: irinagulyai@gmail.com

Шалесная Снежана Яновна; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: Shalesnaja@mail.ru

Курбат Михаил Николаевич, канд. мед. наук., доц.; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: vwmisha@mail.ru

Цыркунов Владимир Максимович, д-р мед. наук, профессор; Гродненский государственный медицинский университет; e-mail: tvm111@mail.ru; ORCID: 0000-0002-9366-6789

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

Financing. The study was performed without external funding.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Information about authors:

Kondratovich Irina; Grodno State Medical University; e-mail: iriskak22@mail.ru

Novogrodskaya Yana; Grodno State Medical University; e-mail: yanapovogrodskaya@mail.ru; ORCID: 0000-0001-9505-6717

Andreev Viktor, PhD (Biology), Professor; Grodno State Medical University; e-mail: andrvp@yandex.ru

Kravchuk Rimma, PhD (Biology); Grodno State Medical University; e-mail: rimma.kravchuk@yandex.ru

Astrowskaja Aksana, PhD (Medicine); Grodno State Medical University; e-mail: astrowskaja@gmail.com

Huliai Iryna, PhD (Biology); Grodno State Medical University; e-mail: irinagulyai@gmail.com

Shalesnaja Sniazhana; Grodno State Medical University; e-mail: Shalesnaja@mail.ru

Kurbat Mikhail, PhD (Biology), Associate Professor; Grodno State Medical University; e-mail: vwmisha@mail.ru

Tsyrukunov Vladimir, PhD, MD (Medicine), Professor; Grodno State Medical University; e-mail: tvm111@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Поступила: 10.11.2020

Принята к печати: 13.11.2020

Received: 10.11.2020

Accepted: 13.11.2020