ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / RESEARCH ARTICLES

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА СТРУКТУРУ СОСУДИСТЫХ СПЛЕТЕНИЙ ЖЕЛУДОЧКОВ У КРЫС

Фоканова О.А., Кораблева Т.В., Фоканов К.С.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия, e-mail: oafokanova-76@mail.ru

Для цитирования:
Фоканова О.А., Кораблева Т.В., Фоканов К.С. Влияние острой ишемии головного мозга на структуру сосудистых сплетений желудочков у крыс. Морфологические ведомости. 2023;31(4):764. https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(4).764

Резюме. Многие современные хронические заболевания ведут к развитию церебральной гипоперфузии (ишемии мозга). Одной из актуальных проблем при развитии ишемии мозга является состояние его не нейральных структурных компонентов. Цель исследования - изучить количественные показатели структурных компонентов сосудистых сплетений мозга крыс в условиях острой искусственной ишемии. Объектом исследования являлись 30 белых крыс линии Вистар массой 200-220 грамм в возрасте 4 месяцев, разделенных на 6 равных групп по 5 животных: контрольная группа, экспериментальные группы – через 1 час, 1 сутки, 3 суток, 7 суток, 14 суток эксперимента. Наркотизированных животных фиксировали на станке, препарировали обе общие сонные артерии, которые затем плотно лигировали. Рану обрабатывали антисептиком и послойно ушивали. Затем через 1 час, на 1, 3, 7, 14 сутки крысы последовательно выводились из эксперимента. Для оценки объема желудочков головного мозга выбирали срезы, на которых площадь их сечения была максимальной. Показатель объема желудочков головного мозга определяли на оцифрованных микрофотографиях при увеличении в 4 раза путем обведения их границ и последующих расчетов в морфометрической компьютерной программе ImageJ. Определение объемных фракций сосудистых сплетений проводили стереологическим методом на 50 серийных срезах с помощью окулярной сетки с 60 равноудаленными узлами пересечения на микроскопе Микромед при увеличении в 400 раз. В результате исследования установлено, что при острой экспериментальной ишемии головного мозга сосудистые сплетения желудочков претерпевают значительные структурные изменения в разные временные интервалы, во всех отделах желудочков меняется общая и сосудистая архитектоника. В боковых желудочках происходит рост максимальной площади, относительный объем сосудистых сплетений снижается, объемная фракция сосудов внутри сплетения увеличивается, объемная фракция клеток уменьшается. Для других желудочков характерна специфическая динамика. Полученные результаты вносят вклад о механизмах патогенеза острой ишемии мозга и ее последствий.

Ключевые слова: ***желудочки головного мозга, сосудистые сплетения, острая ишемия мозга, ангиоархитектоника, крысы Вистар***

Статья поступила в редакцию 15 декабря 2022
Статья принята к публикации 17 декабря 2023

THE INFLUENCE OF ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA ON THE RATS VENTRICULAR VASCULAR PLEXUS STRUCTURE

Fokanova OA, Korablyova TV, Fokanov KS

Yaroslavl' State Medical University, Yaroslavl', Russian Federation, e-mail: oafokanova-76@mail.ru

For the citation:
Fokanova OA, Korablyova TV, Fokanov KS. The influence of acute cerebral ischemia on the rats ventricu-lar vascular plexus structure. Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2023;31(4):764. https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(4).764

Summary. Many modern chronic diseases lead to the development of cerebral hypoperfusion (brain ischemia). One of the top problems in the development of cerebral ischemia is the state of its non-neural structural components. The purpose of the study is the quantitative indicators of the structural components of the choroid plexuses of the rat brain at acute artificial ischemia. The object of the study was 30 white Wistar rats weighing 200-220 grams at the age of 4 months, divided into 6 equal groups of 5 animals: control group, experimental groups - after 1 hour, 1 day, 3 days, 7 days, 14 days of the experiment. Anesthetized animals were fixed, both common carotid arteries were prepared, which were then tightly ligated. The wound was treated with an antiseptic and sutured in layers. Then, after 1 hour, on days 1, 3, 7, 14, the rats were sequentially removed from the experiment. To assess the volume of the brain ventricles, sections were selected in which their cross-sectional area was maximum. The volume of the ventricles of the brain was determined on digitized micrographs at a 4-fold magnification by tracing their boundaries and subsequent calculations in the morphometric computer program ImageJ. Determination of volumetric fractions of the choroid plexuses was carried out by the stereological method on 50 serial sections using an ocular grid with 60 equidistant intersection nodes on a Micromed microscope at a magnification of 400 times. As a result of the study, it was established that during acute experimental cerebral ischemia, the choroid plexuses of the ventricles undergo significant structural changes at different time intervals, and the general and vascular architecture changes in all parts of the ventricles. In the lateral ventricles, the maximum area increases, the relative volume of the choroid plexuses decreases, the volume fraction of vessels inside the plexus increases, and the volume fraction of cells decreases. Other ventricles are characterized by specific dynamics. The results obtained contribute to the mechanisms of the pathogenesis of acute cerebral ischemia and its consequences.

Keywords: ***ventricles of the brain, choroid plexuses, acute cerebral ischemia, angioarchitectonics, Wistar rats***

Article received 15 December 2022
Article accepted 17 December 2023

Введение. Сосудистые заболевания головного мозга являются главными причинами высокой инвалидизации и смертности, что в более 70% случаев связано с ишемическими типа нарушениями мозгового кровообращения [1-2]. Наибольшее внимание при изучении влияния дефицита кислорода уделяется гематоэнцефалическому барьеру [3-5]. Нарушение структуры гематоэнцефалического барьера приводит к развитию гипоксии, которая проявляется целым спектром гистологических феноменов, начиная от обратимых изменений и заканчивая гибелью нейронов [6-7]. В клетках астроцитарной глии, олигодендроглии и микроглии изменения проходят по гипертрофическому типу вследствие большей устойчивости этих клеток к гипоксии [8-9]. Наиболее выраженная реакция отмечается в эндотелиоцитах, которые участвуют в синтезе макромолекул, их транспортировке, обеспечивают компенсаторные изменения микрососудистого русла, неоангиогенез в норме и при патологии [10-13]. Работы, посвященные гематоликворному барьеру при церебральной гипоперфузии единичны, в них в основном изучались сосудистые сплетения боковых желудочков [1, 4, 14]. Отмечено, что при моделировании гипоксии происходят нарушения пространственной цито- и ангиоархитектоники. Исследование морфологических изменений сосудистых сплетений во всех желудочках головного мозга одновременно с учетом их ликвородинамики и гемодинамики не проводилось.

Для оценки постишемических нарушений широко используется модель ишемии головного мозга, вызванная билатеральной перевязкой общих сонных артерий [15-16]. Большинство экспериментальных работ выполнено на белых крысах линии Вистар. Это определило выбор их для моделирования гипоксии для того, чтобы впоследствии было возможным сопоставить собственные данные с данными других исследователей [8]. Особенности данной модели гипоксии состоят в том, что нарушения кровообращения более выражены в переднем мозге и менее в стволовой части, где кровообращение поддерживается двумя позвоночными артериями [17]. Комплексное исследование сосудистых сплетений боковых, III и IY желудочков при моделировании гипоксии позволяет выявить специфические черты компенсаторных реакций, что определило актуальность и научную новизну работы.

Цель исследования: изучить количественные показатели структурных компонентов сосудистых сплетений желудочков головного мозга линии Вистар в условиях искусственной гипоксии.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились 30 белых крыс линии Вистар массой 200-220 г в возрасте 4 месяцев, разделенных на 6 равных групп по 5 животных: контрольная группа и группы с воздействием гипоксии в течение - 1 часа, 1 суток, 3 суток, 7 суток, 14 суток. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 351000.3-96 и 51000.4-96) и приказу Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики» с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Все эксперименты проведены в соответствии с российскими нормативами и современными международными биоэтическими стандартами по работе с лабораторными животными (на эксперименты получено заключение локального этического комитета Ярославского госмедуниверситета, протокол № 4 от 18.10.2016). Наркотизированных животных (уретановый наркоз, 1000 мг/кг, внутрибрюшинно) фиксировали на станке, препарировали обе общие сонные артерии, которые затем плотно лигировали. Рана послойно ушивалась и подвергалась обработке антисептиком. Затем через 1 час, на 1, 3, 7, 14 сутки гипоксии крысы последовательно выводились из эксперимента. В качестве сроков эксперимента были выбраны критические точки в развитии церебральной ишемии [15]. По окончании выведенное из эксперимента животное помещалось на живот, после чего производились послойные разрезы черепной коробки, с помощью ранорасширителя

обеспечивался доступ к головному мозгу, который извлекали и переносили в фиксатор - 10% нейтральный формалин и заливали в парафиновую среду. Горизонтальные серийные срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином с последующим заключением в бальзам. Для анализа использовали не менее 50 срезов, в поле зрения которых находились боковые III и IV желудочки каждого животного. Для оценки их объема выбирали срезы, где площадь сечения желудочков была максимальной. Показатель определяли на оцифрованных микрофотографиях (x4) путем обведения границ желудочков и с последующим расчетом в морфометрической компьютерной программе ImageJ. Определение объемных фракций сосудистых сплетений и расчет относительного объема и общей фракции сосудов, фракции клеток проводили стереологически на 50 серийных срезах с помощью окулярной сетки с 60 равноудаленными узлами пересечения на микроскопе Микромед при увеличении в 400 раз. Для проверки однородности дисперсий, полученных данных использовали критерий Фишера. В сравниваемых выборках условие гомоскедастичности выполнено. Распределение значения переменных в вариационных рядах первичных данных оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Распределение переменных было нормальным, поэтому проверку статистических гипотез проводили с помощью параметрического метода (t-критерия Стьюдента). Данные представлены как среднеарифметическое значение и стандартная ошибка средней (M±m). Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Изменения максимальной площади сечения (Smax) в разных желудочках мозга имеет существенные особенности. Smax бокового желудочка в контрольной группе равна 2,18±0,7 мм². На 3 сутки гипоксии зарегистрирован рост этого показателя в 2,7 раз, до 5,88±0,4 мм², с последующей стабилизацией до конца наблюдения. В III желудочке Smax в контроле составила 1,27±0,1 мм². На 3 сутки гипоксии происходит увеличение площади в 2 раза (2,63±0,6 мм²), с дальнейшим достоверным увеличением до 3,5±0,28 мм² к 14 суткам.

Таблица 1

Динамика количественных показателей желудочков головного мозга крыс при экспериментальной церебральной гипоксии (M±m, n=5 в каждой группе эксперимента)

Возраст 4 месяца (n=30)	Максимальная площадь сечения (мм²)	Относительный объем сосудистых сплетений	Объемная фракция сосудов в сплетениях	Объемная фракция клеток в сплетениях
Боковые желудочки*				
контроль	2,18±0,7	81%	27%	73%
гипоксия 1 час	2,01±0,16	87%[1]	20%[1]	80%[1]
гипоксия 1 сутки	3,18±0,21[1,2]	78%[2]	34%[2]	66%[2]
гипоксия 3 сутки	5,88±0,36[1,2]	51%[1,2]	42%[1,2]	58%[1,2]
гипоксия 7 сутки	5,76±0,41[1]	42%[1,2]	56%[1,2]	44%[1,2]
гипоксия 14 сутки	4,93±0,26[1,2]	53%[1,2]	47%[1]	43%[1]
III желудочек				
контроль	1,27±0,1	51%	34%	66%
гипоксия 1 час	0,87±0,03	60%[1]	44%[1]	56%[1]
гипоксия 1 сутки	1,19±0,27	32%[1,2]	44%[1]	56%[1]
гипоксия 3 сутки	2,63±0,58[1,2]	38%[2]	40%	60%[2]
гипоксия 7 сутки	2,91±0,34[1]	51%[2]	59%[1,2]	41%[1,2]
гипоксия 14 сутки	3,5±0,28[1,2]	44%	53%[1]	47%[1,2]
IV желудочек				
контроль	4,35±0,1	26%	36%	64%
гипоксия 1 час	3,64±0,73	17%[1]	39%	61%
гипоксия 1 сутки	3,87±0,05	17%[1]	39%	61%
гипоксия 3 сутки	5,01±0,61[1,2]	16%[1]	36%	64%
гипоксия 7 сутки	11,4±0,46[1,2]	16%[1]	56%[1,2]	44%[1,2]
гипоксия 14 сутки	8,80±0,16[1]	15%[1]	58%[1]	42%[1]

Примечание: * значение показателя приведены в расчете на один боковой желудочек; [1] - различия значимы при $p<0,05$ по сравнению с контролем; [2] - различия значимы при $p<0,05$ по сравнению с предыдущим опытом

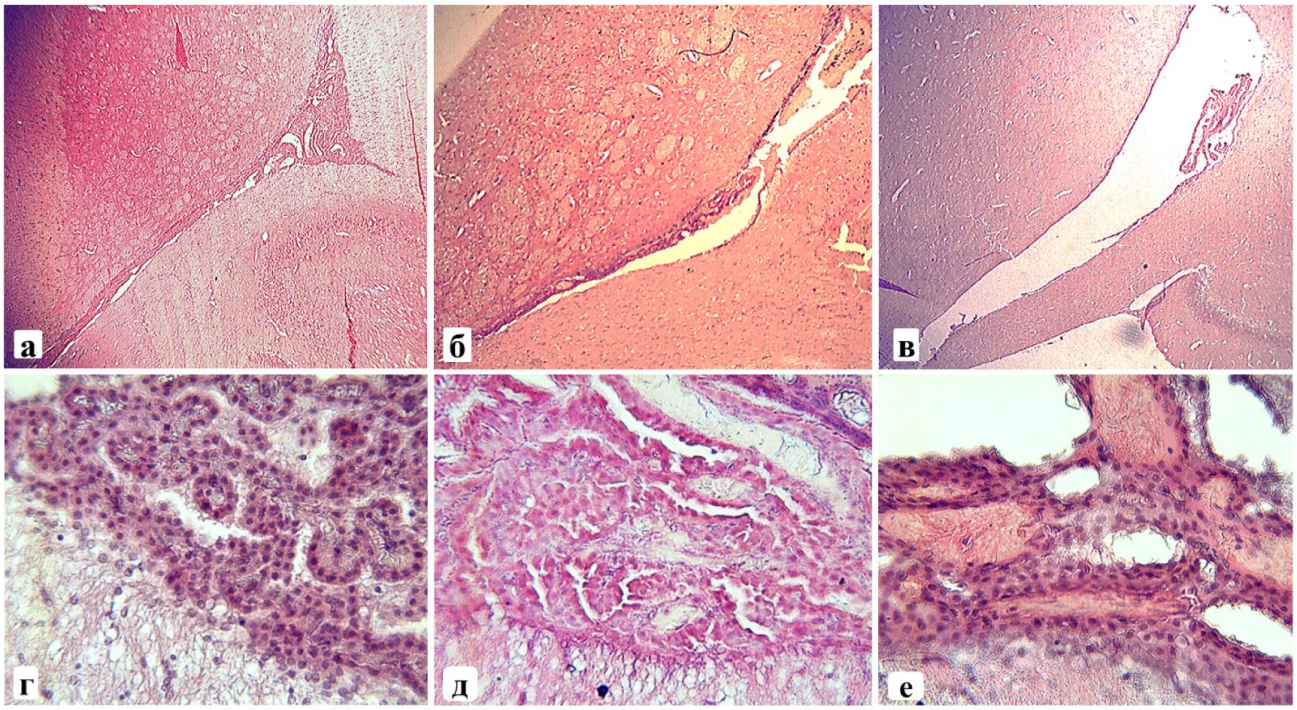

Рис. 1. Микрофото структуры боковых желудочков головного мозга крыс при церебральной гипоксии. Обозначения: а – контроль; б – гипоксия 1 сутки; в – гипоксия 3 суток, г – контроль; д – гипоксия 1 сутки; е – гипоксия 3 суток. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: а, б, в – х40; г, д, е – х400

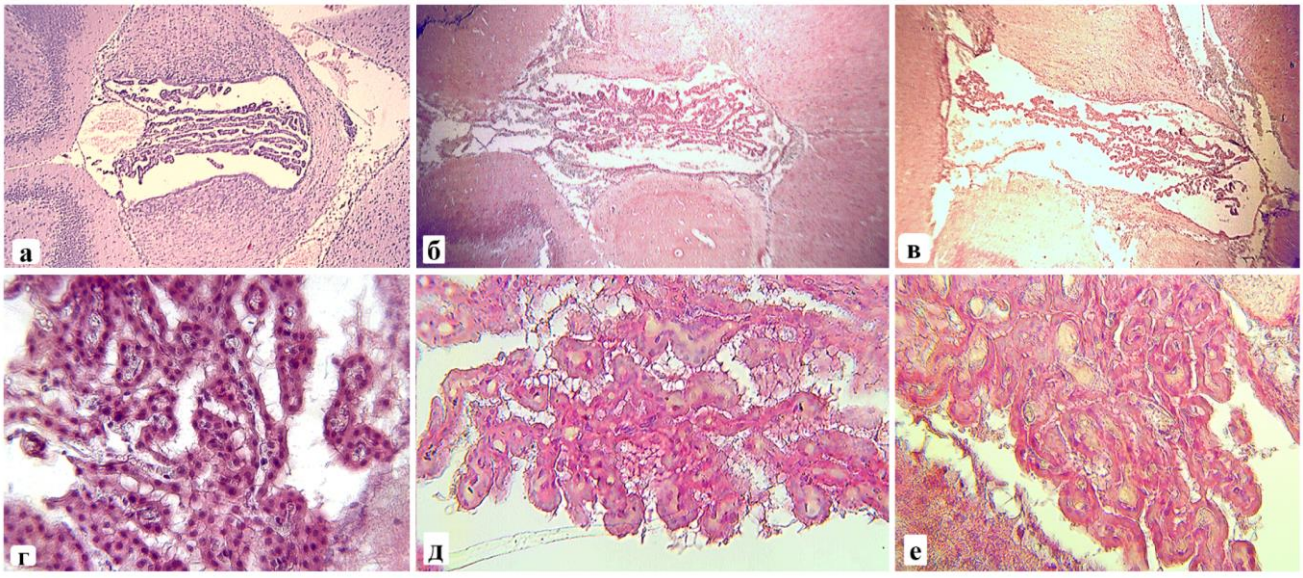

Рис. 2. Микрофото структуры боковых желудочков головного мозга крыс при церебральной гипоксии. Обозначения: а – контроль; б – гипоксия 1 сутки; в – гипоксия 7 суток, г – контроль; д – гипоксия 1 сутки; е – гипоксия 7 суток. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: а, б, в – х40; г, д, е – х400

В IV желудочке на 1 и 3 сутки исследования значимого изменения Smax не наблюдается, на 7 сутки происходит максимальное увеличение этого показателя в 2,6 раз (с 4,35±0,1 до 11,4±0,5 мм^2), на 14 сутки Smax - 8,8±0,2 мм^2, что в 2 раза превышает контрольное значение. Таким образом, рост площади сечения наблюдается во всех желудочках головного мозга (табл. 1, рис. 1, рис. 2, рис. 3).

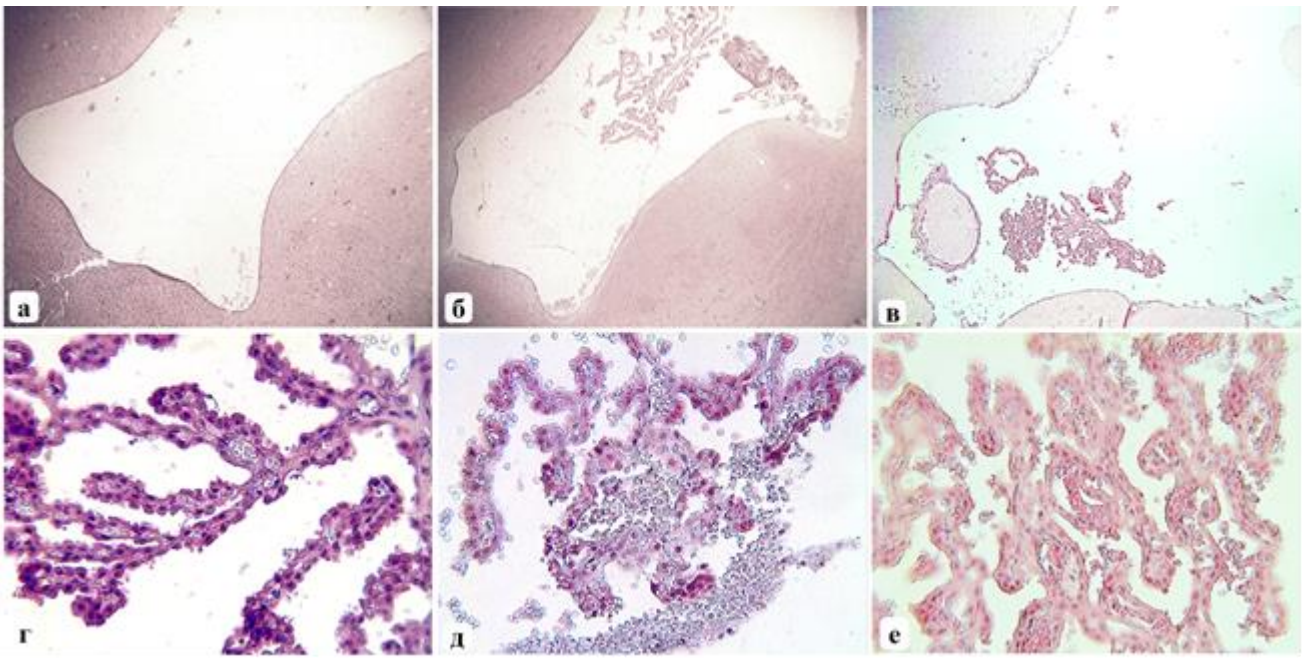

Рис. 3. Микрофото структуры четвертого желудочка головного мозга крыс при церебральной гипоксии. Обозначения: а – контроль; б – гипоксия 1 сутки; в – гипоксия 7 суток, г – контроль; д – гипоксия 1 сутки; е – гипоксия 7 суток. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: а, б, в – х40; г, д, е – х400

Относительный объем сосудистого сплетения бокового желудочка по отношению к объему полости желудочка у крыс группы контроля составляет 81%. В первый час гипоксии отмечается увеличение данного показателя до 87% ($p>0,05$). Этот рост происходит за счет увеличения объемной фракции клеток. Начиная с первых суток гипоксии и на протяжении всего острого периода, отмечается уменьшение относительного объема сосудистых сплетений в боковых желудочках в 1,6 раз. Через час после билатеральной перевязки сонных артерий в III желудочке был зарегистрирован рост относительного объема сосудистого сплетения, обусловленный увеличением объемной фракции сосудов. Через сутки произошло уменьшение данного показателя в 2 раза с дальнейшим его восстановлением на 7 сутки. Относительный объем сосудистого сплетения IV желудочка в группе контроля равен 26%. Начиная с 1 часа гипоксии, отмечается уменьшение данного показателя. На 3 сутки он снижается в 1,6 раза, оставаясь на данном уровне весь период наблюдения. (табл. 1, рис. 1, рис. 2, рис. 3).

Объемная фракция сосудов в сплетении бокового желудочка у животных группы контроля составляет 27%. На 1 час гипоксии зарегистрировано снижение данного показателя на 7%, с дальнейшим постепенным увеличением до конца всего периода наблюдения. В III желудочке группы контроля относительный объем фракции сосудов составляет 34%. С начала эксперимента прослеживается постепенный прирост объемной фракции сосудов до максимума на 7 сутки. В IV желудочке значимого изменения объемной фракции сосудов в течение 1 и 3 суток не наблюдается. На 7-14 сутки отмечается увеличение показателя на 20% (табл. 1, рис. 1, рис. 2, рис. 3).

Объемная фракция клеток в сосудистом сплетении бокового желудочка у животных контрольной группы составляет 73%. В первый час гипоксии происходит небольшое увеличение данного показателя. В последующие сроки объемная фракция клеток постепенно уменьшается до 43% на 14 сутки исследования. В III желудочке объемная фракция клеток у животных группы контроля равняется 66%. В течение всего периода наблюдения прослеживается тенденция снижения данного показателя до минимальных значений на 7 сутки. Объемная фракция клеток в сосу-

дистом сплетении IV желудочка в контрольной группе составляет 64%, в эксперименте данный показатель на 1 и 3 сутки гипоксии не изменяется, далее объемная фракция клеток снижается в 1,5 раза на 14 сутки (табл. 1, рис. 1, рис. 2, рис. 3).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что при гипоксии сосудистые сплетения желудочков головного мозга претерпевают значительные изменения. Двустороннее лигирование общих сонных артерий вызывает хроническую гипоперфузию головного мозга, приводящую к увеличению полости всех желудочков головного мозга. Для боковых желудочков характерно необратимое, резко выраженное уменьшение объема сосудистых сплетений по отношению к полости. Зарегистрировано относительно плотное прилегание отдельных петель кровеносных сосудов друг к другу с явлениями дезорганизации. Регистрируются зоны ишемии не только сосудистого сплетения, но и вещества мозга. Участки, подвергшиеся ишемии, заполнены валом клеток лимфоцитарного ряда. Регистрируется нарушение структурной организации эпендимального покрова желудочка в виде его утолщения либо истончения, а иногда и отслоения от прилегающего вещества мозга. В III желудочке наблюдается сходная по морфологическим проявлениям реакция на гипоксию, она менее выраженная и обратимая. В нем отмечались признаки перицеллюлярного и периваскулярного отека ткани мозга.

Объем сосудистого сплетения IV желудочка головного мозга крысы уменьшился резко и необратимо. В стенке IV желудочка в месте прилегания сосудистого сплетения обнаруживается ишемическая зона, где наблюдается набухание глиальных клеток. В некоторых участках сосудистого сплетения отмечается нарушение целостности его стенки с выходом клеток крови в полость желудочка, эпендимиальный покров утолщается с явлениями отслойки от вещества мозга.

Заключение. Выявленные реакции сосудистого сплетения свидетельствуют о значительных изменениях данной структуры головного мозга при гипоксии, характеризующихся выраженной специфичностью в разных желудочках. Для оценки отдаленных последствий гипоксии мозга и возможностей компенсаторных реакций в сосудистых сплетениях требуется расширение объема исследования. Данная работа создает предпосылки для уточнения представления о механизмах патогенеза церебральной гипоксии и может служить основой для фармакологических исследований, направленных на изучение эффективности соответствующих лекарственных препаратов.

Литература
References

1. *Krylova VJu, Nasonova TI, Turchina NS. Khronicheskaya ishemiya mozga. Mezhdunarodny nevrologichesky zhurnal. 2007;3(13):102-103. In Russian*
2. *Drobelnkov AV, Shabanov PD. Morfologiya ishemizirovannogo mozga. S-Pb: Art-Xpress, 2018.208s. In Russian*
3. *Korzhevsky DJe, Otellin VA. Strukturnye osnovy stanovleniya gematolikvornogo bar'era u cheloveka. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2002;33(4):43-52. In Russian*
4. *Novikova LN. Ul'trastruktura gematolikvornogo bar'era v sosudistom spletenii bokovykh zheludochkov golovnogo mozga krolika pri ostroy ishemii. Journal of GrGMU. 2009;2:76-78. In Russian*
5. *Shuvalova MS. O sosudistykh spleteniyakh golovnogo mozga krysy. Vestnik KRSU. 2017;17(3):190-193. In Russian*
6. *Shcherbak NS, Galagudza MM, Mitrofanova LB i dr. Sovmestnoe primenenie ishemicheskogo postkonditsionirovaniya i tsitikolina pri ishemii-reperfuzii golovnogo mozga u mongol'skikh peschanok. Arterial'naya gipertenziya. 2012;18.(6):540-546. In Russian*
7. *Lovat' ML, Avrushchenko MSh, Averina OA i dr. Deystvie antioksidanta skq1 na strukturnofunktsional'noe sostoyanie mozga v postreanimatsionnom periode. Obshchaya reanimatologiya. 2016;12(2):6-19. In Russian*
8. *Krishtop VV, Rumyantseva TA, Nikonorova VG. Tserebral'naya hypoperfusiya v experimente. Yaroslavl': Avers Plyus, 2020.151s. In Russian*
9. *Sergeeva SP, Erofeeva LM, Shishkin LV i dr. Nekotorye aspekty morfologii nervnoy tkani golovnogo mozga posle ostrogo narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnology. 2016;23(3):130-135. In Russian*
10. *Liu Y1, Shoji-Kawata S, Sumpter MJr, et al. Autosis is a Na+,K+-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia. Proc Natl Acad Sci USA. 2013;110(51):20364-20371*
11. *Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN, Kanya OV. Angiogenez kak adaptivny mekhanizm pri ishemii. Bulleten' Vostochnosibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk. 2013;5:192-195. In Russian*
12. *Nahirney PC, Reeson P, Brown CE. Ultrastructural analysis of blood-brain barrier breakdown in the peri-infarct zone in young adult and aged mice. J. Cereb. Blood Flow Metab. 2016; 36(2):413-425. https://doi.org/10.1177/0271678X15608396*
13. *Cai W, Liu H, Zhao L, et al. Pericytes in brain Injury and repair after ischemic stroke. Transl. stroke res. 2017;8(2):107-121. https://doi.org/10.1007/s12975-016-0504-4*

14. *Ohtaki H, Fujimoto T, Sato T, et al. Progressive expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiogenesis after chronic ischemic hypoperfusion in rat. Acta neurochirurgica. 2006;96(Suppl):283-287*
15. *Vasil'ev IA, Stupak VV, Chernykh VA, i dr. Eksperimental'nye modeli sosudistykh porazheny golovnogo mozga. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2015;1(3):366-369. In Russian*
16. *Washida K, Hattori Y, Ihara M. Animal Models of Chronic Cerebral Hypoperfusion: From mouse to primate. Int. J. Mol. Sci. 2019;24:6176. https://doi.org/10.3390/ijms20246176*
17. *Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinate. Academic press. 1998;16(24):414-429*

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Фоканова Ольга Анатольевна, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия;
e-mail: oafokanova-76@mail.ru

Кораблева Татьяна Владимировна, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия;
e-mail: korablevat@mail.ru

Фоканов Кирилл Сергеевич, студент, Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия;
e-mail: fks-76@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Ol'ga A. Fokanova, Docent, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of the Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl' State Medical University, Yaroslavl', Russian Federation;
e-mail: oafokanova-76@mail.ru

Tat'yana V. Korablyova, Docent, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of the Histology, Cytology and Embryology, Yaroslavl' State Medical University, Yaroslavl', Russian Federation;
e-mail: korablevat@mail.ru

Dmitry K. Obukhov, Student, Yaroslavl' State Medical University, Yaroslavl', Russian Federation;
e-mail: fks-76@mail.ru