

Влияние иммунокомпрометированной беременности крыс на морфологию селезенки у потомства в условиях экспериментального онкогенеза

О.М. Арлашкина¹, Г.Ю. Стручко², Л.М. Меркулова¹, М.Н. Михайлова¹

¹ ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары, Россия

² ФГБОУ ВО Марийский государственный университет, Йошкар-Ола, Россия

Резюме. Введение. В современном мире продолжает увеличиваться число беременностей, протекающих на фоне вторичных иммунодефицитных состояний, вызванных как внутренними, так и внешними факторами, такими как инфекционные процессы, травмы, тяжелые операции и развитие опухолей. Недостаток знаний о воздействии различных иммунокомпрометирующих факторов до беременности на развитие иммунных органов ставит задачи по дальнейшему поиску новых данных. Цель исследования – оценить морфологическую структуру селезенки и пролиферативную активность ее клеток у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок в условиях экспериментально смоделированного онкогенеза.

Материалы и методы. С помощью классических морфологических подходов (окрашивание гематоксилином и эозином) и специфического иммуногистохимического маркера пролиферации Ki67 проведено исследование селезенки 150 крыс – потомства интактных и иммунокомпрометированных особей без воздействия и в условиях постнатального введения канцерогена 1,2-диметилгидразина. В качестве иммунокомпрометирующего фактора была выбрана спленэктомия, которую проводили крысам-самкам за 1 месяц до зачатия.

Результаты. У потомства иммунокомпрометированных крыс-самок значительно сокращается доля структур селезенки, относящихся к ее белой пульпе, – в 1,75 раза ($p < 0,01$), при этом количество лимфоидных узелков больших размеров уменьшается на 8,05% ($p < 0,01$). На фоне роста опухоли в толстой кишке у потомства крыс-самок, перенесших спленэктомию, гипоплазия белой пульпы селезенки более выражена, чем у потомства крыс, чья беременность протекала без особенностей. Также при развитии аденокарциномы у потомства иммунокомпрометированных крыс в селезенке более значительно уменьшается численность Ki67+ клеток, в первую очередь в герминативных центрах лимфоидных узелков.

Заключение. У потомства крыс, чья беременность протекала на фоне иммунокомпрометированного состояния, наблюдаются гипопластические изменения в белой пульпе селезенки. При онкогенезе у такого потомства происходит более выраженное сокращение интенсивности клеточной пролиферации с одновременным уменьшением количества вторичных лимфоидных узелков и площади белой пульпы, что может быть одним из признаков иммунодефицитного состояния, которое в дальнейшем приводит к прогрессированию опухоли.

Ключевые слова: селезенка, беременность, иммунодефицит, Ki67, опухоль, онкогенез

Для корреспонденции: Марина Николаевна Михайлова. E-mail: mar3007@mail.ru

Для цитирования: Арлашкина О.М., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Михайлова М.Н. Влияние иммунокомпрометированной беременности крыс на морфологию селезенки у потомства в условиях экспериментального онкогенеза. Клини. эксп. морфология. 2025;14(6):40–50. DOI: 10.31088/CEM2025.14.6.40-50.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 04.08.2025. Получена после рецензирования 10.09.2025. Принята в печать 29.09.2025.

Effects of immunosuppressed pregnancy on offspring spleen morphology in a rat model of experimental oncogenesis

O.M. Arlashkina¹, G.Yu. Struchko², L.M. Merkulova¹, M.N. Mikhailova¹

¹ IN Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia

² Mari State University, Yoshkar-Ola, Russia

Abstract. Introduction. Nowadays, the number of immunosuppressed pregnancies is increasing. Immunosuppressed pregnancy can be caused by internal and external factors, such as infectious processes, injuries, severe operations, and tumors. Limited knowledge about the effects of various immunosuppres-

sing conditions during pregnancy on the development of immune organs in offspring poses challenges for scientists and highlights the need for further investigation. The study aimed to evaluate the spleen morphological structure and cell proliferation in the offspring of immunosuppressed female rats under experimental carcinogenesis.

Materials and methods. Using H&E staining and Ki-67 as an immunohistochemical marker for cell proliferation, we examined 150 spleens of offspring of intact and immunosuppressed rats with and without post-natal exposure to the carcinogen 1,2-dimethylhydrazine. Immunosuppression was induced by splenectomy performed in female rats one month before mating.

Results. In the offspring of immunosuppressed female rats, the proportion of white pulp decreases by 1.75 times ($p < 0.01$), whereas the proportion of large lymphoid nodules decreases by 8.05% ($p < 0.01$). During tumor growth in the colon, the offspring of splenectomized females showed more pronounced hypoplasia of the white pulp compared to that of the offspring of rats whose pregnancies proceeded normally. In addition, in the offspring of immunosuppressed females that developed adenocarcinoma, the number of Ki-67+ cells in the spleen, primarily in the germinal centers of lymphoid nodules, was markedly lower.

Conclusion. The offspring of rats with immunosuppressed pregnancies exhibited hypoplastic changes in the white pulp. During oncogenesis, these offspring showed a more pronounced reduction in cell proliferation activity, accompanied by a decrease in the number of secondary lymphoid nodules and the white pulp area. These changes may indicate immunodeficiency that contributes to tumor progression.

Keywords: spleen, pregnancy, immunodeficiency, Ki-67, tumor, oncogenesis

Corresponding author: Marina N. Mikhailova. E-mail: mar3007@mail.ru

For citation: Arlashkina O.M., Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Mikhailova M.N. Effects of immunosuppressed pregnancy on offspring spleen morphology in a rat model of experimental oncogenesis. Clin. exp. morphology. 2025;14(6):40–50 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.6.40-50.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 04.08.2025. **Received in revised form** 10.09.2025. **Accepted** 29.09.2025.

Введение

Будущее современного общества в значительной степени зависит от здоровья новорожденных и детей, что отражает и определяет здоровье всего населения в целом. Увеличение показателей заболеваемости среди детского населения является логичным следствием снижения уровня общего здоровья женщин детородного возраста [1, 2]. Состояние здоровья женщин зависит от множества факторов, которые косвенно или напрямую влияют на течение беременности [3, 4]. В настоящее время сохраняется увеличение числа беременностей, протекающих на фоне вторичных иммунодефицитных состояний, вызванных как внутренними, так и внешними факторами, в том числе инфекционными процессами, хроническими заболеваниями, приемом лекарственных препаратов на постоянной основе, травмами, оперативными вмешательствами и развитием опухолей. Во время пандемии COVID-19 значительное число беременностей было скомпрометировано течением новой коронавирусной инфекции [5]. Сведений о влиянии такого состояния иммуносупрессии во время беременности на развитие иммунных органов у потомства недостаточно, а затруднения в воспроизведении соответствующей экспериментальной модели заставляют ученых продолжать поиск новых данных. Зная максимально полный патогенез влияния различных иммунодефицитных состояний на развитие иммунных органов у плода, можно снизить высокий уровень управляемой патологии детского возраста путем адекватной прегравидарной подготовки женщины.

Как известно, состояние иммунной системы матери до беременности и во время нее имеет решающее значение для пренатального программирования иммунного статуса у зародыша, которое будет играть большую роль в становлении иммунитета и после рождения ребенка [3, 6]. Индивидуальные черты строения и функционирования иммунных органов матери зародыш наследует через так называемый эпигенетический материнский иммунный импринтинг [7]. Этот механизм обеспечивает будущему потомству превентивную иммунную резистентность к наиболее часто встречающимся антигенам [3, 8], сбой в нем могут приводить к появлению аллергии, аутоиммунной патологии и даже развитию опухолей у ребенка [3, 4]. Несмотря на то, что механизмы влияния состояния иммунной системы матери до беременности и во время внутриутробного периода на развитие иммунных органов плода изучаются в экспериментальных условиях на лабораторных животных на протяжении многих лет [9–11], в этой проблеме еще много белых пятен.

Одной из самых чувствительных к действию внешних и внутренних факторов в организме является иммунная система, важным звеном которой служит селезенка. Ее уникальное строение позволяет совмещать функции лимфоидного органа и органа гемопоэза [9, 12, 13]. Это самый крупный лимфоидный орган, который при возникновении опухоли становится источником клеток ее микроокружения. К ним относятся селезеночные макрофаги и дендритные клетки, а также В- и Т-лимфоциты [14–16]. Возможно, они участвуют

в формировании так называемых третичных лимфоидных структур (ТЛС) в самой опухоли, непосредственно влияющих на рост, прогрессирование и метастазирование рака [17, 18]. Влияние селезенки на онкогенез недостаточно изучено, и до сих пор у ученых нет полного понимания роли клеток селезенки в феномене крайне редкого метастазирования в нее при канцерогенезе [19, 20]. Больше того, многие клиницисты до сих пор не понимают уникальность селезенки, вследствие чего спленэктомия наряду с аппендэктомией рассматривается как вмешательство, не имеющее серьезных последствий [21, 22]. Тем не менее существует множество данных о высокой значимости спленэктомии в развитии иммунодефицитных состояний [21, 23–25] и усугублении онкогенеза [18, 20]. Качество формирования противоопухолевого иммунного ответа во многом зависит от пролиферации Т- и В-лимфоцитов в иммунокомпетентных компартментах селезенки [15, 26].

Цель исследования – оценить морфологическую структуру селезенки и пролиферативную активность ее клеток на фоне экспериментального онкогенеза у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок.

Материалы и методы

Исследование проведено на 150 белых нелинейных крысах-самцах, распределенных на четыре группы: 1-я – потомство интактных крыс (контроль), $n=30$; 2-я – потомство иммунокомпрометированных крыс-самок, $n=40$; 3-я – потомство интактных крыс-самок, у которых был смоделирован канцерогенез, $n=40$; 4-я – потомство иммунокомпрометированных крыс-самок, у которых также был вызван канцерогенез, $n=40$. В качестве иммунокомпрометирующего фактора была выбрана спленэктомия, которую проводили крысам-самкам за 1 месяц до спаривания. Потомство интактных крыс получали от спаривания интактных самок с интактными самцами. По достижении возраста 1 месяц потомству интактных и иммунокомпрометированных крыс для моделирования аденокарциномы толстой кишки вводили канцероген 1,2-диметилгидразин (Acros Organics, Бельгия) согласно R.F. Jacoby et al. (1991). Водный раствор 1,2-диметилгидразина вводили один раз в неделю интраперитонеально в дозе 20 мг/кг в течение 4 недель (общая курсовая доза составила 80 мг/кг). Для того чтобы нивелировать воздействие стрессового фактора на результаты от инъекций канцерогена, крысам группы контроля интраперитонеально вводили 0,9% раствор NaCl по 0,5 мл с той же периодичностью, что и канцероген. Через 4 месяца после окончания курса инъекций животных декапитировали. Все манипуляции с крысами проводили согласно требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Страсбург, 1986). Исследование одобрено на заседании локального этического комитета медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол № 20-01 от 29.01.2020).

Для гистологического исследования парафиновые срезы селезенки окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. С помощью цифровой фотокамеры Canon DS126191 (Canon, Тайвань), люминесцентного микроскопа «Микромед 3 Люм» («Микромед», Россия) и программы «Микро-Анализ» (Labor-Microscopes, Россия) на полученных цифровых снимках оценивали стромально-паренхиматозное отношение, соотношение белой и красной пульпы, долю первичных и вторичных лимфоидных узелков.

Для идентификации клеточной пролиферации парафиновые срезы селезенки толщиной 4 мкм окрашивали иммуногистохимически с использованием моноклонального антитела к маркеру клеточной пролиферации Ki67 (клон MM-1, Santa Cruz Biotechnology, США) с применением системы визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND (Leica Biosystems, Германия) и докрасиванием гематоксилином. Для оценки выраженности реакции на Ki67 проводили подсчет позитивно окрашенных (коричневым цветом) ядер с последующим расчетом индекса пролиферации (IKi67) по формуле $IKi67 = (n/N) \times 100$, выражаемого в процентах, где n – число позитивных ядер к белку Ki67, N – общее число ядер в поле зрения микроскопа. Подсчеты проводили на микрофотографиях при $\times 900$ в 10 случайных полях зрения каждого среза с учетом только ядерного окрашивания без анализа его интенсивности и особенностей прокрашивания ядер. Подсчет клеток в герминативных центрах белой пульпы селезенки осуществляли отдельно, выбирая в них при этом участки с наибольшим уровнем выраженности реакции на Ki67 [27].

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, США). Были использованы стандартные методы параметрической и непараметрической статистики. Для определения типа распределения применяли критерий Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. При нормальном распределении данных брали t -критерий Стьюдента и такие стандартные показатели, как средняя арифметическая величина M и средняя ошибка средней арифметической величины m . При распределении, отличающемся от нормального, использовали U -критерий Манна–Уитни для двух групп и Краскела–Уоллиса при сравнении трех исследуемых групп, при этом выборки описывали через медиану (Me), нижний и верхний квартили ($Q1$ и $Q3$). Статистически значимыми считали различия между группами при $p < 0,01$.

Результаты

На окрашенных гематоксилином и эозином срезах селезенка крыс контрольной группы имела типичную картину с хорошо выраженными структурами белой, красной пульпы и немногочисленного стромального компонента в виде светло-розовой капсулы и соединительнотканых трабекул в толще красной пульпы (рис. 1 А). Красная пульпа была равномерно оксифиль-

ная, умеренного кровенаполнения, доля ее площади со структурами стромального компонента – около 80%. Доля белой пульпы, представленной периартериальными лимфоидными муфтами (ПАЛМ) и лимфоидными узелками (ЛУ), составила около 20%. ПАЛМ в основ-

ном представлены лимфоцитами, а также крупными клетками, которые могут относиться к интердигитальным дендритным клеткам или к макрофагам. Среди ЛУ присутствовали как первичные, так и вторичные. Первичные ЛУ имели округлую или овальную форму,

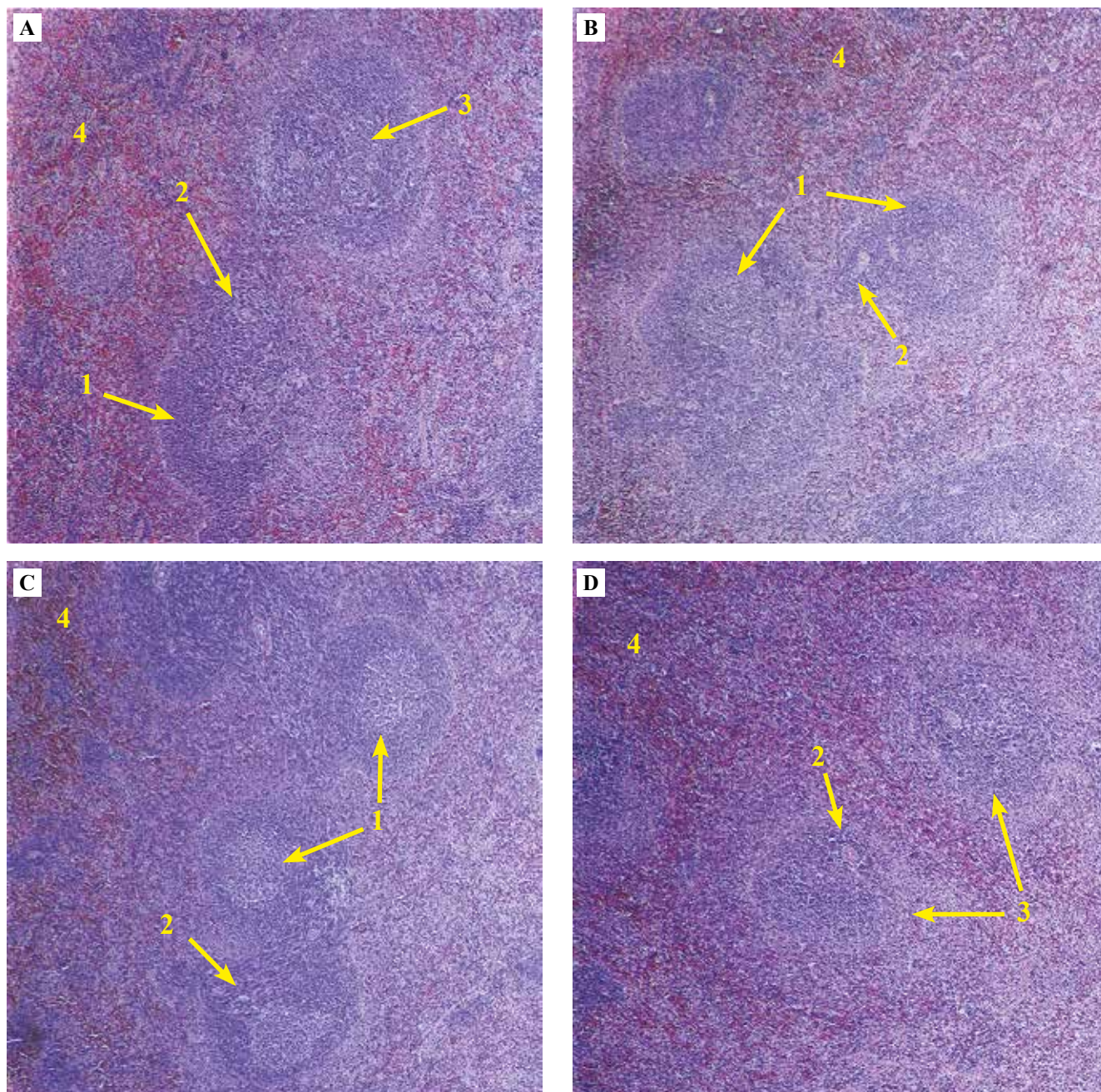


Рис. 1. Селезенка крыс контрольной группы (А) типичного строения; у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок с полнокровием красной пульпы (В); при канцерогенезе у потомства intactных крыс-самок – неравномерное кровенаполнение красной пульпы, увеличение числа ЛУ в поле зрения (С); при канцерогенезе у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок – неравномерное кровенаполнение красной пульпы, стертая зональность ЛУ (D). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

1 – вторичные лимфоидные узелки, 2 – ПАЛМ, 3 – первичные лимфоидные узелки, 4 – красная пульпа

Fig. 1. The spleen of control group rats (A) has a typical structure; in the offspring of immunosuppressed female rats, it has congestion of the red pulp (B); in the offspring of intact female rats with carcinogenesis, there is uneven blood flow in the red pulp and an increase in the number of lymphoid nodules in the field of vision (C); in the offspring of immunosuppressed female rats with carcinogenesis, there is uneven blood flow in the red pulp and a blurred zonation of the lymphoid nodules (D). H&E stain, $\times 100$
1 – secondary lymphoid nodules, 2 – periarteriolar lymphoid sheaths, 3 – primary lymphoid nodules, 4 – red pulp

четкие края и равномерную базофильную окраску за счет преобладающей в них популяции клеток – лимфоцитов. Вторичные ЛУ отличались от первичных ЛУ большими размерами и характерным зональным строением с четкой дифференцировкой на светлый герминативный центр, ПАЛМ, мантийную и маргинальную зоны. Отношение числа первичных ЛУ к вторичным ЛУ составило 1:2,6. Размеры ЛУ сильно варьировали, поэтому мы дифференцировали ЛУ больших размеров (с диаметром более 500 мкм), ЛУ средних размеров (от 300 до 500 мкм) и ЛУ маленького размера (менее 300 мкм). Отношение между ними представлено в таблице 1. При иммуногистохимической обработке срезов селезенки моноклональными антителами к ядерному белку клеточной пролиферации Ki67 выявлено, что такие клетки наиболее многочисленны и плотно расположены друг к другу в герминативных центрах узелков (рис. 2 А). В красной пульпе Ki67+ клетки были расположены диффузно, их численность меньше, чем в бе-

лой пульпе (рис. 3 А). Пролиферативная активность клеток наименьшая в мантийной и маргинальной зонах вторичных ЛУ, там обнаруживались лишь единичные клетки, дающие положительную реакцию к Ki67.

В ходе исследования выявлено, что общегистологическое строение селезенки у потомства иммунокомпрометированных крыс обладает рядом особенностей. Красная пульпа имеет ярко-красную окраску за счет полнокровия ее сосудов. Площадь белой пульпы уменьшена в 1,75 раза ($p<0,01$). Округлая форма первичных ЛУ меняется на неправильную, границы между зонами у вторичных ЛУ становятся несколько стертыми (рис. 1 В). Увеличивается доля ЛУ маленьких размеров в 4 раза ($p<0,01$), а доля крупных, напротив, уменьшается на 8,05% ($p<0,01$). Отношение первичных ЛУ ко вторичным ЛУ составляет 1:1,6 ($p<0,01$) за счет значимого сокращения числа вторичных ЛУ (табл. 1).

Выраженность реакции на Ki67+ в клетках белой пульпы также превалирует над ее интенсивнос-

Таблица 1 | Table 1

Морфометрические показатели селезенки без воздействия и при онкогенезе у потомства интактных и иммунокомпрометированных крыс | Morphometric parameters of the spleen in the offspring of intact and immunosuppressed rats under normal conditions and in oncogenesis

Морфометрические показатели Morphometric indices	Контрольная группа Control group, Me (Q1; Q3)	Потомство иммунокомпрометированных крыс-самок Offspring of immunosuppressed female rats, Me (Q1; Q3)	Онкогенез у потомства интактных крыс-самок Oncogenesis in the offspring of intact female rats, Me (Q1; Q3)	Онкогенез у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок Oncogenesis in the offspring of immunosuppressed female rats, Me (Q1; Q3)
Площадь белой пульпы, % Area of the white pulp, %	21 (15; 32)	12 (10; 27) $p=0,007924^*$	11,5 (10; 20,5) $p=0,000012^{**}$	9 (8; 10) $p=0,000000...^{**}$
Площадь красной пульпы и стромы, % Area of the red pulp and stroma, %	80 (68; 89)	82 (77; 92) $p=0,001234^{**}$	88 (68; 94,02) $p=0,0000199^{**}$	90 (72,2; 98) $p=0,000000...^{**}$
Доля крупных ЛУ, % Share of large LN, %	65,25 (63,3; 67,8)	57,2 (55,3; 58,9) $p=0,000008^{**}$	46,45 (44,5; 48,5) $p=0,000000...^{**}$	13,95 (12,6; 16,8) $p=0,000000...^{**}$
Доля средних ЛУ, % Share of medium LN, %	32,6 (31,3; 34,4)	34,105 (32,7; 35,6) $p=0,119160312$	45,0 (42,4; 47,67) $p=0,000000...^{**}$	67,5 (65,87; 70,08) $p=0,000000...^{**}$
Доля мелких ЛУ, % Share of small LN, %	1,96 (1,88; 2,05)	8,05 (7,05; 9,01) $p=0,000000...^{**}$	8,1 (7,9; 9,06) $p=0,000000...^{**}$	17,8 (17,09; 19,07) $p=0,000000...^{**}$
Отношение первичных ЛУ к вторичным ЛУ Primary to secondary LN ratio	1:2,6	1:1,6	1:1,5	1:0,5

ЛУ – лимфоидные узелки | LN – lymphoid nodules

Различия по сравнению с группой контроля достоверны при $p<0,01$ (*) или $p<0,001$ (**) | The differences compared to the control group are significant at $p<0.01$ (*) or $p<0.001$ (**)

тью в красной пульпе (рис. 2 В и 3 В). Индекс пролиферативной активности в герминативных центрах ЛУ изменяется незначительно (табл. 2). В красной пульпе в результате увеличения числа Ki67+ клеток в поле зрения (рис. 2 В) достоверно возрастает IKi-67 (табл. 2).

Экспериментальный онкогенез, индуцированный введением 1,2-диметилгидразина, у потомства интактных и иммунокомпрометированных крыс отличается. Выявлено, что у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок аденокарциномы толстой кишки развиваются на 15% чаще, чем у потомства интактных крыс. При этом у потомства иммунокомпрометированных крыс 52% аденокарцином составили высокодифференцированные опухоли, 41% – умереннодифференцированные, а 7% – низкодифференцированные. У потомства интактных крыс на долю высокодифференцированных и умереннодифференцированных аденокарцином пришлось 63 и 37%, соответственно.

Низкодифференцированные опухоли в этой группе исследования не выявлены.

На фоне канцерогенеза у потомства интактных крыс селезенка претерпевает следующие изменения. Красная пульпа отличается неравномерным кровенаполнением (рис. 1 С), ее площадь на 8% больше, чем у группы контроля ($p < 0,01$) (табл. 1). В белой пульпе увеличивается общее количество ЛУ в одном поле зрения (рис. 1 С), преимущественно за счет ЛУ маленького и среднего размера, их доля от общего числа ЛУ составляет 8 и 45%, соответственно. Доля ЛУ больших размеров сократилась в 1,6 раза и составила всего 47%. Следовательно, изменилось отношение первичных ЛУ ко вторичным, что свидетельствует об уменьшении количества последних. В герминативных центрах ЛУ клетки, экспрессирующие Ki67, расположены менее компактно (рис. 2 С), в 2 раза уменьшается IKi67 (табл. 2). В красной пульпе численность пролиферирующих клеток незначительно уменьши-

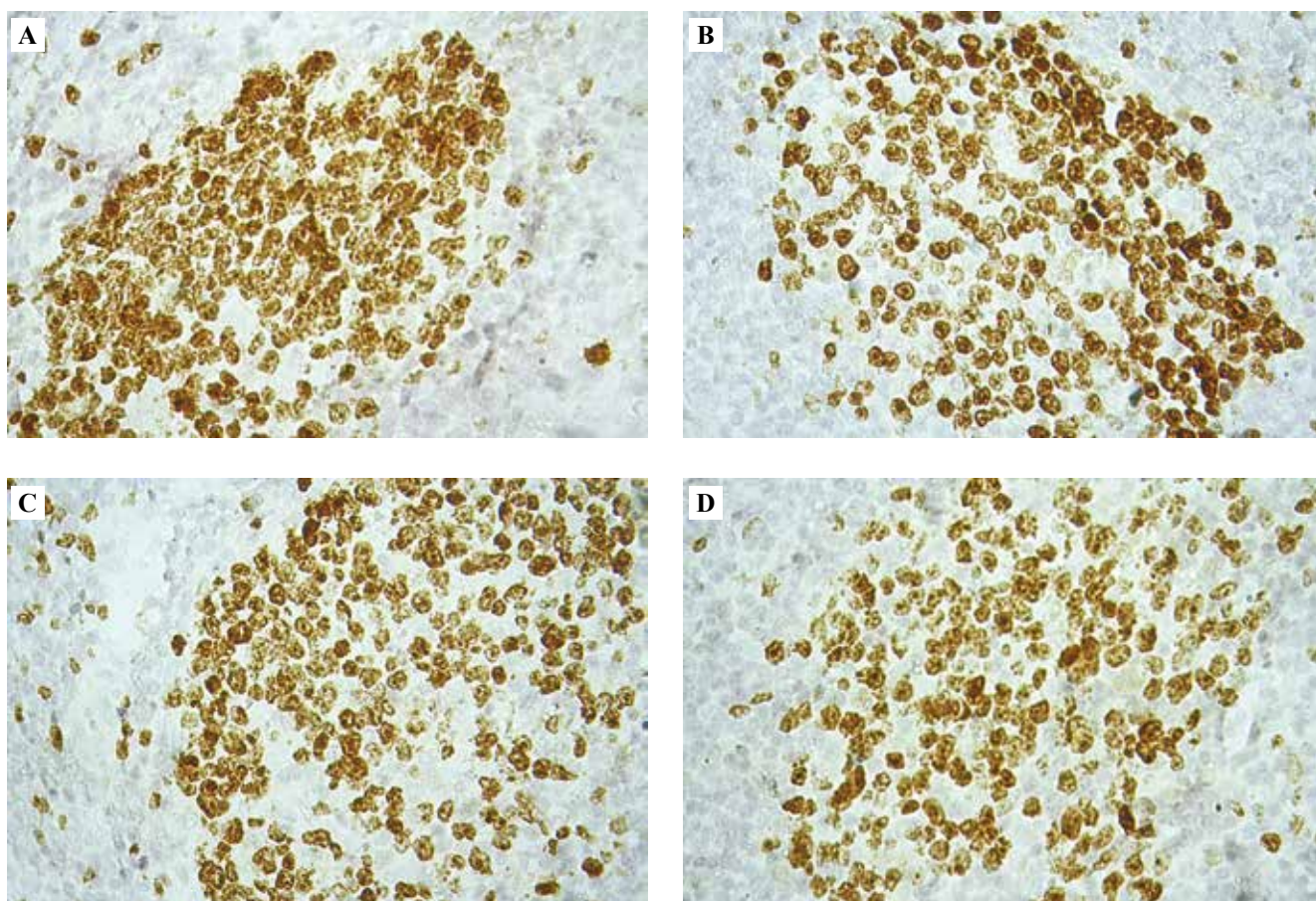


Рис. 2. Ki-67+ клетки (окрашены коричневым цветом) в герминативном центре лимфоидного узелка селезенки у крыс контрольной группы (А); уменьшение числа Ki-67+ клеток у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок (В); при канцерогенезе у потомства интактных крыс-самок (С) и у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок (D). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 900$

Fig. 2. Ki-67+ cells (stained brown) in the germinal center of the lymphoid nodule of the spleen in rats of the control group (A); decrease in the number of Ki-67+ cells in the offspring of immunosuppressed female rats (B); in the offspring of intact female rats (C) and in the offspring of immunosuppressed female rats (D). IHC, $\times 900$

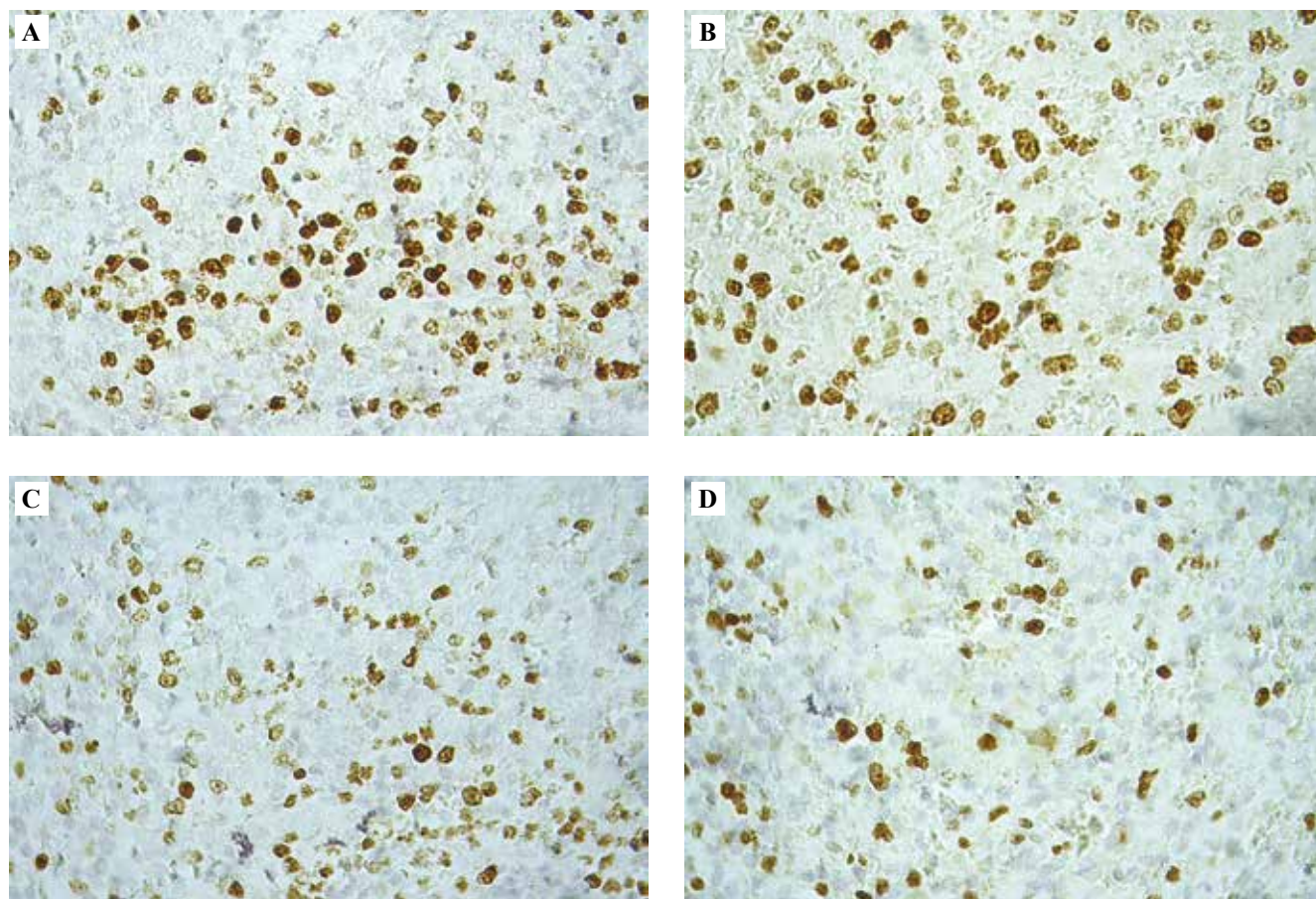


Рис. 3. Ki-67+ клетки (окрашены коричневым цветом) в красной пульпе селезенки у крыс контрольной группы (А); увеличение числа этих клеток у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок (В); их незначительное уменьшение при канцерогенезе у потомства интактных крыс-самок (С) и у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок (D). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 900$

Fig. 3. Ki-67+ cells (stained brown) in the red pulp of the spleen in control rats (A); increase in the number of cells in the offspring of immunosuppressed female rats (B); a slight decrease in the number of Ki-67+ cells during carcinogenesis in the offspring of intact female rats (C) and in the offspring of immunosuppressed female rats (D). IHC, $\times 900$

лась (рис. 3 С), а индекс пролиферации остался практически неизменным.

При развитии рака у потомства иммунокомпрометированных крыс микроскопическая картина селезенки характеризуется нечеткостью границ белой пульпы, неравномерной оксифильной окраской красной пульпы с чередованием бледных и ярких, полнокровных, зон (рис. 1 D). Площадь белой пульпы значительно уменьшена и составляет всего 9%, что в 2,3 меньше, чем у группы контроля ($p < 0,01$) (табл. 1). Общая площадь красной пульпы и стромы на 10% больше, чем у контрольной группы исследования ($p < 0,01$). ЛУ белой пульпы существенно меньше в размере, имеют нечеткие контуры, зональность резко стерта (рис. 1 D). Дифференцировка первичных и вторичных ЛУ затруднена ввиду неярко выраженного герминативного центра у последних (рис. 1 D). Соединительнотканная капсула и трабекулы утолщены. Доля ЛУ большого размера сократилась в 5 раз, а

среднего и маленького размера, с небольшими центрами размножения или вовсе без них, наоборот, увеличилась в 2 и 10 раз, соответственно ($p < 0,01$) (табл. 1). Таким образом, на фоне онкогенеза в толстой кишке доля крупных узелков в селезенке является наименьшей по сравнению с другими группами исследования, а доля мелких и средних – наибольшей. Отношение первичных ЛУ ко вторичным из-за трудности их дифференцировки между собой составляет всего 1:0,5, что существенно меньше, чем у контрольной группы исследования.

В герминативных центрах вторичных ЛУ значительно сокращается доля пролиферирующих клеток с реакцией на Ki67 (рис. 2 D). Клеточная пролиферация уменьшилась не только по сравнению с контрольной группой, но и по сравнению с потомством интактных крыс, у которых также был моделирован канцерогенез (табл. 2). В красной пульпе доля Ki67+ клеток изменяется статистически незначимо (рис. 3 D).

Таблица 2 | Table 2

Индекс пролиферации клеток селезенки без воздействия и при онкогенезе у потомства интактных и иммунокомпрометированных крыс | Proliferation index of splenic cells in the offspring of intact and immunosuppressed rats under normal conditions and in oncogenesis

Индекс пролиферации Proliferation index	Контрольная группа Control group, Me (Q1; Q3)	Потомство иммунокомпрометированных крыс-самок Offspring of immunosuppressed female rats, Me (Q1; Q3)	Онкогенез у потомства интактных крыс-самок Oncogenesis in the offspring of intact female rats, Me (Q1; Q3)	Онкогенез у потомства иммунокомпрометированных крыс-самок Oncogenesis in the offspring of immunosuppressed female rats, Me (Q1; Q3)
IKi-67 в белой пульпе, % Ki-67 index in the white pulp, %	38,06 (27,58; 49,655)	24,25 (21,68; 31,63) p=0,027494	19,26 (17,25; 23,25) p=0,00034**	17,95 (15,13; 20,13) p=0,000102**
IKi-67 в красной пульпе, % Ki-67 index in the red pulp, %	10,73 (8,74; 11,14)	16,79 (14,7; 20,19) p=0,000118**	9,85 (8,62; 10,46) p=0,525374043	11,44 (8,82; 14,2) p=0,394685546

IKi-67 – индекс пролиферации

Различия по сравнению с группой контроля достоверны при $p < 0,01$ (*) или $p < 0,001$ (**) | The differences compared to the control group are significant at $p < 0.01$ (*) or $p < 0.001$ (**)

Обсуждение

В текущем исследовании удаление селезенки у крыс-самок послужило серьезным иммунокомпрометирующим воздействием перед тем как у них наступила беременность. Факт супрессивного влияния спленэктомии на иммунитет подтверждается многочисленными исследованиями [25, 28–30], по данным которых известно, что после подобного вмешательства происходит снижение концентрации в крови иммуноглобулинов, в результате чего падает опсонизирующая и фагоцитарная активность крови. В сыворотке уменьшается содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD45RA+ лимфоцитов, компонентов комплемента, возрастает концентрация CD16+, CD57+, NK-клеток и провоспалительных цитокинов [25, 29]. В ходе работы было выявлено, что протекание беременности на фоне аналогичного иммунокомпрометирующего состояния, также вызванного спленэктомией, приводит у потомства к некоторым изменениям в селезенке, касающимся ее микроскопического строения: уменьшается площадь белой пульпы, увеличивается площадь красной пульпы и стромального компонента, уменьшается число вторичных иммуноактивных лимфоидных узелков белой пульпы. По нашему мнению, подобные изменения в селезенке связаны с ее отставанием в развитии и замедлением трансформации из органа кроветворения в орган иммунной системы [9, 11, 26]. Стоит отметить, что индекс пролиферации клеток белой пульпы при этом меняется незначительно, что можно расценить, по нашему мнению, как сохранение пролиферативной активности клеток селезенки при данном состоянии. Однако герминативные центры вторичных ЛУ селезенки потомства оказались наиболее чувствительными к действию такого иммунокомпрометирующего фактора,

как спленэктомия, на материнский организм. При этом IKi67 в красной пульпе, напротив, значимо увеличен, что может свидетельствовать о напряженности экстрамедуллярного гемопоэза.

В данной работе предпринята попытка выяснить, влияют ли подобные вмешательства в иммунную систему матери до беременности на микроструктуру селезенки и пролиферативную активность ее клеток у потомства на фоне канцерогенеза в толстой кишке. Показано, что при развитии опухоли в толстой кишке наибольшие изменения претерпевает селезенка именно у потомства иммунокомпрометированных крыс. По сравнению с потомством интактных животных у него более выражена гипоплазия белой пульпы, более значимо увеличивается доля красной пульпы и стромы, значительно сокращается доля вторичных ЛУ, в герминативных центрах которых был зафиксирован самый наименьший показатель IKi67. В красной пульпе индекс пролиферации у них изменяется незначительно, что может свидетельствовать о пониженной реактивности структур селезенки, участвующих в экстрамедуллярном гемопоэзе, на фоне канцерогенеза. Следует отметить, что ЛУ селезенки по структуре и клеточному составу схожи с ТЛС, которые появляются в опухолях или хронически воспаленных тканях. При этом наличие в их герминативных центрах Ki67+ клеток является признаком зрелости данных структур и связано с улучшением прогноза и выживаемости при колоректальном раке, и, наоборот, отсутствие зрелых ТЛС (без пролиферирующих герминативных центров) в опухоли было определено как неблагоприятный прогностический индикатор [18]. В нашем случае первичные ЛУ без центров размножения и Ki67+ клеток можно сравнить с незрелыми ТЛС, а вторичные, содержащие Ki67+ герминативные центры, со зрелыми ТЛС,

поэтому более выраженное снижение интенсивности клеточной пролиферации в селезенке у потомства иммунокомпрометированных самок наряду с уменьшением численности вторичных ЛУ и площади белой пульпы может быть одним из предикторов иммунодефицитного состояния, которое в дальнейшем приводит к прогрессированию опухоли.

По нашему мнению, удаление селезенки незадолго до наступления беременности приводит к недостаточности всех звеньев иммунитета у матери, а в дальнейшем негативно влияет на закладку и развитие иммунных органов у потомства [3, 11, 26, 29, 31]. Одной из причин выраженного иммунодефицита у самок после спленэктомии может быть устойчивое увеличение у них в крови уровня кортизола, который регистрируется даже в отдаленные сроки после операции [11, 23]. Соответственно, недостаточная пассивная иммунизация потомства спленэктомированных крыс-самок вследствие вторичного иммунодефицитного состояния сначала в эмбриональный период через плаценту, а затем в период новорожденности через материнское молоко также нарушает процессы становления иммунной системы у потомства [6, 7]. Вероятно, все это приводит к задержке в развитии селезенки и ее незрелости в постэмбриональный период, что, в свою очередь, становится причиной ослабления противоопухолевого иммунного ответа у потомства иммунокомпрометированных крыс.

Заключение

В ходе эксперимента выявлено, что у потомства, рожденного от иммунокомпрометированных вследствие спленэктомии крыс, селезенка характеризуется гипопластическими процессами функционально значимой белой пульпы в виде сокращения ее общей площади, уменьшения количества крупных лимфоидных узелков и иммуноактивных вторичных лимфоидных узелков, в герминативных центрах которых падает численность пролиферирующих Ki67+ клеток. Все это может свидетельствовать о снижении функциональной активности белой пульпы у такого потомства. В результате снижения иммуноактивности у потомства иммунокомпрометированных крыс канцерогенез протекал более агрессивно с развитием опухоли низкой дифференцировки и более выраженными морфологическими и иммуногистохимическими изменениями в селезенке, чем у потомства крыс, которые были рождены от интактных особей. Это проявляется более выраженной гипоплазией белой пульпы, уменьшением количества вторичных лимфоидных узелков, в которых более значимо, чем в других группах исследования, снижается интенсивность клеточной пролиферации.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова.

Сбор и обработка материала – О.М. Арлашкина, М.Н. Михайлова. Написание текста – О.М. Арлашкина, М.Н. Михайлова.

Редактирование – Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – G.Yu. Struchko, L.M. Merkulova.

Collected the data and performed the analysis – O.M. Arlashkina, M.N. Mikhailova.

Wrote the paper – O.M. Arlashkina, M.N. Mikhailova.

Edited the manuscript – G.Yu. Struchko, L.M. Merkulova.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Кузнецова О.М., Марченко А.Н. Эпидемиологический анализ заболеваемости внутриутробными инфекциями новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных за многолетний период. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3):31–39. DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-3-31-39.
Kuznetsova OM, Marchenko AN. Incidence of intrauterine infections in neonatal intensive care unit: a long-term epidemiological analysis. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2022;7(3):31–39 (In Russ.) DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-3-31-39.
2. Шестак Е.В., Ковтун О.П., Мыларшичкова Е.А., Нечаева Ю.И. Ретроспективный анализ заболеваемости в когорте поздних недоношенных новорожденных. *Уральский медицинский журнал*. 2024;23(6):7–17. DOI: 10.52420/umj.23.6.7
Shestak EV, Kovtun OP, Mylarshchikova EA, Nechaeva IuI. Retrospective analysis of diseases in a cohort of late preterm infants. *Ural Medical Journal*. 2024;23(6):7–17 (In Russ.). DOI: 10.52420/umj.23.6.7.
3. Цахилова С.Г., Кузнецов В.П., Хмельницкая А.В., Зайналбекова Н.Г., Поletaев А.Б. Влияние иммунного статуса матери на развитие плода и здоровье новорожденного (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2016;22(6):38–43. DOI: 10.17116/repro201622638-43.
Tsakhilova SG, Kuznetsov VP, Khmel'nitskaya AV, Zaynalbekova NG, Poletaev AB. The influence of the immune status of the mother on fetal development and the health of the newborn (a review). *Russian Journal of Human Reproduction*. 2016;22(6): 38–43 (In Russ.) DOI: 10.17116/repro201622638-43.
4. DeVries A, McCauley K, Fadrosch D, Fujimura KE, Stern DA, Lynch SV et al. Maternal prenatal immunity, neonatal trained immunity, and early airway microbiota shape childhood asthma development. *Allergy*. 2022;77(12):3617–28. DOI: 10.1111/all.15442.
5. Shook LL, Fourman LT, Edlow AG. Immune responses to SARS-CoV-2 in pregnancy: implications for the health of the next generation. *J Immunol*. 2022;209(8):1465–73. DOI: 10.4049/jimmunol.2200414.
6. Verduci E, Gianni ML, Vizzari G, Vizzuso S, Cerasani J, Mosca F et al. The triad mother-breast milk-infant as predictor of future health: a narrative review. *Nutrients*. 2021;13(2):486. DOI: 10.3390/nu13020486.
7. Amir M, Zeng MY. Immune imprinting in utero. *Science*. 2021;373(6558):967–8. DOI: 10.1126/science.abl3631.
8. Кузьменко Л.Г., Быстрова О.В., Зиминова И.В., Пушко Л.В., Москвина С.Н., Киселева Н.М. и др. Функциональное состояние тимуса у доношенных новорожденных детей и их

- матерей. Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского. 2011;90(1):8–13. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15551711> (получено 01.08.2025).
- Kuzmenko LG, Bystrova OV, Zimina IV, Pushko LV, Moskvina SN, Kiseleva NM et al.* Functional state of the thymus in full-term newborns and their mothers. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky.* 2011;90(1):8–13 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15551711> (accessed 01.08.2025).
9. *Петренко В.М.* Селезенка в эмбриогенезе человека. Международный журнал экспериментального образования. 2016;9-1:76–77. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=26561504> (получено 01.08.2025).
 - Petrenko VM.* The spleen in human embryogenesis. *International Journal of Experimental Education.* 2016;9-1:76–77 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=26561504> (accessed 01.08.2025).
 10. *Яглова Н.В., Обернихин С.С.* Морфофункциональное состояние органов иммунной системы потомства мышей после однократного иммуностимулирующего воздействия на материнский организм в ранние сроки беременности. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2013;21(4):24–28. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2013424-28.
 - Yaglova NV, Obernikhin SS.* Morphology of immune system of offspring after stimulation of maternal immune system in early pregnancy. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2013;21(4):24–28 (In Russ.). DOI: 10.17816/PAVLOVJ2013424-28.
 11. *Стручко Г.Ю., Драндрова Е.Г., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Михайлова М.Н.* Морфологическая картина и иммуногистохимический фенотип тимуса при канцерогенезе в условиях врожденного иммунодефицита. Морфология. 2018;154(4):34–39. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=35606290> (получено 01.08.2025).
 - Struchko GYu, Drandrova YeG, Merkulova LM, Kostrova OYu, Mikhailova M.N.* Morphological picture and immunohistochemical phenotype of the thymus in carcinogenesis under conditions of congenital immunodeficiency. *Morphology.* 2018;154(4):34–39 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=35606290> (accessed 01.08.2025).
 12. *Шарафутдинова Л.А., Валиуллин В.В.* Морфологическая характеристика селезенки крыс при воздействии на организм наночастиц диоксида титана. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018;15(6):830–839. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-6-830-839.
 - Sharafutdinova LA, Valiullin VV.* Morphological characteristics of rats spleen when exposed to the nanoparticles of titanium dioxide. *Journal of Ural Medical Academic Science.* 2018;15(6):830–839 (In Russ.). DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-6-830-839.
 13. *Rahmonjonovna KD.* Spleen histostructure, function and formation. *Ethiopian International Journal of Multidisciplinary Research.* 2023;10(08):86–93. Available from: <https://ejmr.org/index.php/ejmr/article/view/43> (accessed 01.08.2025).
 14. *Андрюхова Е.С., Таширева Л.А., Вторушин С.В., Завьялова М.В., Перельмутер В.М.* Макрофаги селезенки: особенности популяционного состава и функции. Цитология. 2022;64(1):14–25. DOI: 10.31857/S0041377122010023.
 - Andryuhova ES, Tashireva LA, Vtorushin SV, Zavyalova MV, Perelmuter VM.* Spleen macrophages: features of population composition and function. *Tsitologiya = Cell and Tissue Biology.* 2022;64(1):14–25 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0041377122010023.
 15. *Wu C, Ning H, Liu M, Lin J, Luo S, Zhu W et al.* Spleen mediates a distinct hematopoietic progenitor response supporting tumor-promoting myelopoiesis. *J Clin Invest.* 2018;128(8):3425–38. DOI: 10.1172/JCI97973.
 16. *Stöth M, Freire Valls A, Chen M, Hidding S, Knipper K, Shen Y et al.* Splenectomy reduces lung metastases and tumoral and metastatic niche inflammation. *Int J Cancer.* 2019;145(9):2509–20. DOI: 10.1002/ijc.32378.
 17. *Schumacher TN, Thommen DS.* Tertiary lymphoid structures in cancer. *Science.* 2022;375(6576):eabf9419. DOI: 10.1126/science.abf9419.
 18. *Mori N, Dorjkhoro G, Shiraishi T, Erkhem-Ochir B, Okami H, Yamaguchi A et al.* A mature tertiary lymphoid structure with a Ki-67-positive proliferating germinal center is associated with a good prognosis and high intratumoral immune cell infiltration in advanced colorectal cancer. *Cancers (Basel).* 2024;16(15):2684. DOI: 10.3390/cancers16152684.
 19. *Рыбаков Е.Г., Пономаренко А.А., Хомяков Е.А., Майновская О.А.* Метастатическое поражение селезенки при колоректальном раке. Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. 2014;9:92–95. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22376010> (получено 01.08.2025).
 - Rybakov EG, Ponomarenko AA, Khomyakov EA, Majnovskaya OA.* Metastatic lesion of spleen in case of colorectal cancer. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2014;9:92–95 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=22376010> (accessed 01.08.2025).
 20. *Steenbrugge J, De Jaeghere EA, Meyer E, Denys H, De Wever O.* Splenic hematopoietic and stromal cells in cancer progression. *Cancer Res.* 2021;81(1):27–34. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2339.
 21. *Каган И.И., Нузова О.Б., Пикин И.Ю.* Эволюция представлений об органосохраняющих операциях на селезенке. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2023;16(2):180–185. DOI: 10.18499/2070-478X-2023-16-2-180-185.
 - Kagan II, Nuzova OB, Pikin IYu.* Organ-preserving surgeries on the spleen: evolution of concepts. *Journal of Experimental and Clinical Surgery.* 2023;16(2):180–185 (In Russ.). DOI: 10.18499/2070-478X-2023-16-2-180-185.
 22. *Romeo L, Bagolini F, Ferro S, Chiozza M, Marino S, Resta G et al.* Laparoscopic surgery for splenic injuries in the era of non-operative management: current status and future perspectives. *Surg Today.* 2021;51(7):1075–84. DOI: 10.1007/s00595-020-02177-2.
 23. *Морозов Д.А., Ключев С.А.* Постспленэктомический гипоспленизм. Вестник Российской академии медицинских наук. 2015;70(4):413–418. DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1406.
 - Morozov DA, Klyuev SA.* Hyposplenism after splenectomy. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015;70(4):413–418 (In Russ.). DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1406.
 24. *Отдельнов Л.А., Джабадари В.В., Мамедов И.З.* Ауто-спленотрансплантация после спленэктомии: забытое прошлое

- или перспективное будущее? Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2024;13(2):264–268. DOI: 10.23934/2223-9022-2024-13-2-264-268.
- Otdelnov LA, Dzhabadari VV, Mamedov IZO. Autosplenotransplantation after splenectomy: long-forgotten past or promising future? Russian Sklifosovsky Journal “Emergency Medical Care”. 2024;13(2):264–268 (In Russ.). DOI: 10.23934/2223-9022-2024-13-2-264-268.
25. Zgodziński W, Grywalska E, Siwicka-Gieroba D, Surdacka A, Zinkiewicz K, Szczepanek D et al. The clinical importance of changes in Treg and Th17 lymphocyte subsets in splenectomized patients after spleen injury. *Adv Clin Exp Med*. 2018;27(7):979–86. DOI: 10.17219/acem/73734.
26. Арлашкина О.М., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Михайлова М.Н. Изменения белой пульпы селезенки у потомства спленэктомизированных крыс разных возрастных периодов после введения 1,2-диметилгидразина. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019;8(4):49–58. DOI: 10.31088/CEM2019.8.4.49–58.
- Arlashkina OM, Struchko GYu, Merkulova LM, Mikhailova MN. Changes in the spleen white pulp in the offspring of splenectomized rats of various ages exposed to 1,2-dimethylhydrazine. *Clinical and experimental morphology*. 2019;8(4):49–58 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2019.8.4.49–58.
27. Акилов Х.А., Примов Ф.Ш. Клинико-гемостазиологические и иммунологические параллели развития постспленэктомического синдрома у детей. Медицинские новости. 2016;3:74–76. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25810399> (получено 01.08.2025).
- Akilov HA, Primov FSh. Clinical and hemostasiological, immunological parallels of the development of postsplenectomy syndrome in children. *Meditsinskie novosti = Medical news*. 2016;3:74–76 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25810399> (accessed 01.08.2025).
28. Масляков В.В., Капалов С.В., Урядов С.Е., Барсуков В.Г., Бахаев А.Д., Куликов С.А. Состояние иммунного статуса у пациентов различных возрастных групп, оперированных по поводу травмы селезенки. Вестник Национального медико-хирургического центра имени Н.И. Пирогова. 2024;19(1):46–49. DOI: 10.25881/20728255_2023_19_1_46.
- Maslyakov VV, Kapralov SV, Uredov SE, Barsukov VG, Bahaev AD, Kulikov SA. The state of the immune status in patients of various age groups operated on for spleen injury. *Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2024;19(1):46–49 (In Russ.). DOI: 10.25881/20728255_2023_19_1_46.
29. Масляков В.В., Урядов С.Е., Табунков А.П. Особенности иммунной системы у пожилых пациентов после спленэктомии в ближайшем послеоперационном периоде. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2015;23(1):115–119. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23322541> (получено 01.08.2025).
- Maslyakov VV, Uryadov SE, Tabunkov AP. Features of immune system at elderly patients after splenectomy in the next postoperative period. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2015;23(1):115–119 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23322541> (accessed 01.08.2025).
30. Ахметзянов Ф.Ш., Гайнанишин Р.Р. Клеточные и гуморальные изменения после спленэктомии. Казанский медицинский журнал. 2018;99(5):802–807. DOI: 10.17816/KMJ2018-802.
- Akhmetzyanov FSh, Gainanshin RR. Cellular and humoral changes after splenectomy. *Kazan Medical Journal*. 2018;99(5):802–807 (In Russ.). DOI: 10.17816/KMJ2018-802.
31. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Коньшев К.В. Стандартизация иммуногистохимического определения уровня экспрессии Ki-67 в клетках различных тканей. Морфология. 2017;151(3):100. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29208268> (получено 01.08.2025).
- Sazonov SV, Brilliant AA, Konyshev KV. Standardization of immunohistochemical determination of the level of Ki-67 expression in the cells of various tissues. *Morphology*. 2017;151(3):100. Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29208268> (accessed 01.08.2025).

Информация об авторах

Ольга Михайловна Арлашкина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова.

Глеб Юрьевич Стручко – доктор медицинских наук, профессор, директор медицинского института Марийского государственного университета.

Лариса Михайловна Меркулова – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова.

Марина Николаевна Михайлова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова.

Author information

Olga M. Arlashkina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, IN Ulyanov Chuvash State University.

<http://orcid.org/0000-0001-7686-5914>

Gleb Yu. Struchko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the Medical Institute, Mari State University.

<https://orcid.org/0000-0002-0549-5116>

Larisa M. Merkulova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, IN Ulyanov Chuvash State University.

<https://orcid.org/0000-0001-7460-6791>

Marina N. Mikhailova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, IN Ulyanov Chuvash State University.

<http://orcid.org/0000-0001-6957-940X>