

## Динамика регенеративного потенциала печени в онтогенезе: роль пролиферации, полиплоидизации и пула двуядерных гепатоцитов в условиях темновой депривации и применения мелатонина

Д.А. Арешидзе, М.А. Козлова, А.И. Ануркина

Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* Печень обладает высокой способностью к регенерации, которая с возрастом прогрессивно снижается. Помимо пролиферации ключевую роль в поддержании гомеостаза печени играют полиплоидизация и пул двуядерных гепатоцитов. Баланс этих процессов находится под сложным контролем, который включает в себя и регуляцию циркадных ритмов. Дисфункция циркадной системы подавляет выработку ключевого гормона-хронобиотика – мелатонина. Синтез мелатонина также снижается с возрастом. Несмотря на известные гепатопротекторные свойства мелатонина, его влияние на фундаментальные механизмы поддержания регенеративного потенциала печени на протяжении всего онтогенеза оставалось недостаточно изученным. Цель исследования – рассмотрение динамики регенеративного потенциала печени в онтогенезе при темновой депривации и на фоне коррекции мелатонином.

*Материалы и методы.* Проведен долгосрочный эксперимент на 360 самцах крыс, разделенных на три группы: контроль (нормальный световой режим), темновая депривация (постоянное освещение) и темновая депривация + мелатонин. Оценивали уровень мелатонина в сыворотке, индекс пролиферации Ki-67, долю двуядерных гепатоцитов и профиль плоидности. Применяли многофакторный статистический анализ.

*Результаты.* Темновая депривация вызвала острый дефицит мелатонина и ускоренное старение печени: снижение пролиферативной активности, усиление полиплоидизации (рост доли 8n клеток до 39,16% к 24 месяцам) и сокращение пула двуядерных гепатоцитов. Мелатонин полностью компенсировал гормональный дефицит, поддерживая физиологический профиль плоидности и стабильно высокую долю двуядерных гепатоцитов (8,82% в 24 месяца против 1,99% в группе темновой депривации в том же возрасте). Факторный анализ выявил два антагонистических процесса: сенесценция (полиплоидизация) и регенерация (пул двуядерных клеток и уровень мелатонина).

*Заключение.* Хронический десинхронизм действует как модель ускоренного старения печени, а экзогенный мелатонин эффективно поддерживает регенеративный потенциал органа, смещая баланс от сенесценции к регенерации. Мелатонин может рассматриваться как перспективная гепатопротекторная стратегия.

**Ключевые слова:** гепатоцит, мелатонин, регенерация

**Для корреспонденции:** Давид Александрович Арешидзе. E-mail: labcelpat@mail.ru

**Для цитирования:** Арешидзе Д.А., Козлова М.А., Ануркина А.И. Динамика регенеративного потенциала печени в онтогенезе: роль пролиферации, полиплоидизации и пула двуядерных гепатоцитов в условиях темновой депривации и применения мелатонина. Клини. эксп. морфология. 2026;15(1):52–63. DOI: 10.31088/CEM2026.15.1.52-63.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» (№ 124021600054-9).

Статья поступила 18.11.2025. Получена после рецензирования 26.11.2025. Принята в печать 10.12.2025.

# Dynamics of liver regenerative potential during ontogenesis: the role of proliferation, polyploidization, and the population of binucleated hepatocytes under dark deprivation and melatonin treatment

D.A. Areshidze, M.A. Kozlova, A.I. Anurkina

Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

**Abstract.** *Introduction.* The liver has high capacity for regeneration, which progressively declines with age. In addition to proliferation, polyploidization and binucleated hepatocytes are crucial for maintaining liver homeostasis. A complex regulatory system, which includes circadian rhythms, maintains the balance of these processes. Circadian rhythm dysfunction suppresses the production of melatonin, the key chronobiotic hormone, whose synthesis also decreases with age. Although melatonin is known for its hepatoprotective properties, its effects on the fundamental mechanisms underlying liver regenerative potential during ontogenesis have not been thoroughly investigated. The aim was to study the dynamics of liver regenerative potential during ontogenesis under dark deprivation and melatonin treatment.

*Materials and methods.* A long-term experiment was conducted on 360 male rats divided into three groups: control (normal light regimen), dark deprivation (DD, constant illumination), and DD + melatonin. We assessed serum melatonin levels, Ki-67 proliferation index, the proportion of binucleated hepatocytes, and the ploidy profile. Multivariate statistical analysis was used.

*Results.* DD caused acute melatonin deficiency and accelerated liver aging: decreased proliferative activity, increased polyploidization (an increase in the proportion of 8n cells to 39.16% by 24 months), and reduced number of binucleated hepatocytes. Melatonin effectively compensated for the hormonal deficiency, preserving a physiological ploidy profile. At 24 months, the proportion of binucleated hepatocytes was 8.82% in the treated group and 1.99% in the DD group. Factor analysis revealed two antagonistic processes: senescence (polyploidization) and regeneration (population of binuclear hepatocytes and melatonin levels).

*Conclusion.* Chronic desynchronization acts as a model of accelerated liver aging, and exogenous melatonin effectively supports liver regenerative potential, shifting the balance from senescence to regeneration. Melatonin can be considered a promising geroprotective strategy.

**Keywords:** hepatocyte, melatonin, regeneration

**Corresponding author:** David A. Areshidze. E-mail: labcelpat@mail.ru

**For citation:** Areshidze D.A., Kozlova M.A., Anurkina A.I. Dynamics of liver regenerative potential during ontogenesis: the role of proliferation, polyploidization, and the population of binucleated hepatocytes under dark deprivation and melatonin treatment. *Clin. exp. morphology.* 2026;15(1)52–63 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.1.52-63.

**Funding.** The study was carried out within the framework of State Assignment to Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery" (No. 124021600054-9).

**Received** 18.11.2025. **Received in revised form** 26.11.2025. **Accepted** 10.12.2025.

## Введение

Печень, будучи центральным метаболическим органом, обладает уникальной регенеративной способностью, которая с возрастом прогрессивно снижается. Наряду с пролиферацией ключевую роль в поддержании гомеостаза играют альтернативные клеточные стратегии – полиплоидизация и формирование пула двуядерных гепатоцитов [1, 2].

Полиплоидизация, характеризующаяся увеличением числа хромосомных наборов, является адаптационным механизмом, повышающим клеточную устойчивость [3, 4]. Критическим этапом этого процесса служит образование двуядерных гепатоцитов, которые представляют собой динамичный клеточный резерв. Они способны как к дальнейшей полиплоидизации, так и к завершённому делению, внося вклад в обновление паренхимы [5–7]. Возрастное снижение доли двуядер-

ных гепатоцитов коррелирует с уменьшением пластичности и регенеративного потенциала печени [8].

Баланс этих процессов находится под сложным контролем, где особая роль принадлежит циркадным ритмам. Дисфункция циркадной системы (десинхроноз), моделируемая постоянным освещением (темновой депривацией, ТД), приводит к подавлению секреции мелатонина – ключевого гормона-хронобиотика [9]. Мелатонин обладает мощными антиоксидантными, противовоспалительными и гепатопротекторными свойствами [10–13]. Его возрастной дефицит рассматривается как один из драйверов старения [14], а экспериментальный десинхроноз ускоряет развитие метаболических нарушений и патологий печени [15].

Тем не менее влияние хронического десинхроноза и его коррекции экзогенным мелатонином на фундаментальные механизмы поддержания регенеративного

потенциала печени в течение всего онтогенеза остается недостаточно изученным. Существует значительный пробел в понимании того, как нарушение циркадного ритма влияет на динамику пролиферации, полиплоидизации и пула двуядерных гепатоцитов в процессе старения.

Таким образом, целью явилось комплексное изучение динамики регенеративного потенциала печени крыс в постнатальном онтогенезе с фокусом на трех взаимосвязанных процессах: пролиферации (индекс Ki-67), полиплоидизации (плоидность гепатоцитов) и размере пула двуядерных гепатоцитов. Исследование проводилось в условиях физиологического старения (контроль), при ускоренном старении, индуцированном хроническим десинхронозом (темновая депривация), и на фоне коррекции последнего экзогенным мелатонином.

### Материалы и методы

В работе использовали 360 самцов крыс стока Вистар, полученных из питомника Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России «Столбовая». Возраст животных на начало эксперимента составлял 90 дней.

Все особи содержались в стандартных лабораторных условиях. Исследование выполнено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (Страсбург, 1986). Исследование одобрено комитетом по биоэтике Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского (протокол № 11 от 14.03.2021).

Животные были разделены на три группы.

1-я группа (контрольная, самцы,  $n=120$ ) содержалась при фиксированном световом режиме (свет:темнота/10:14 часов с включением света в 08:00 и выключением в 18:00).

2-я группа (ТД, экспериментальная, самцы,  $n=120$ ) содержалась при постоянном освещении.

3-я группа (ТД + мелатонин, экспериментальная, самцы,  $n=120$ ) содержалась в тех же условиях, что и 2-я, но с первого дня исследования животные получали препарат мелатонин (Sigma-Aldrich, США) с питьевой водой в дозе 12 мг/л в начале темновой фазы суток 5 раз в неделю.

Выведение животных из эксперимента проводили в возрасте 6, 12, 18 и 24 месяца в углекислотной камере, оборудованной устройством для верхней подачи газа (100% CO<sub>2</sub>). Проводился забор крови для дальнейших исследований, также осуществлялась эвисцерация печени. В связи с естественной смертью были исследованы 22 крысы в возрасте 18 месяцев и 18 крыс в возрасте 24 месяца в контрольной группе, а также 19 и 16 особей тех же возрастных категорий во 2-й группе. В 3-й группе в возрасте 24 месяца было 20 животных.

Часть фрагментов печени фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине с дальнейшей про-

водкой по спиртам возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилолам с последующей заливкой в гистологическую среду «Гистомикс» («БиоВитрум», Россия). Серийные гистологические срезы толщиной 5–6 мкм изготавливали на санном микротоме Leica SM2010 R (Leica Biosystems, Германия). Окрашивание гематоксилином и эозином осуществляли по общепринятым методикам. Окрашенные срезы заключали в монтирующую среду «Витрогель» («БиоВитрум», Россия). На окрашенных таким способом препаратах определяли долю двуядерных гепатоцитов.

Тотальные препараты печени использовали для получения отпечатков, которые затем окрашивали фуксинсернистой кислотой по Фельгену. Плоидность гепатоцитов рассчитывали в единицах плоидности относительно оптической плотности результатов окрашивания диплоидных ядер малых лимфоцитов [16].

Микроскопию гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Leica DM 2500 (Leica Biosystems, Германия) с применением цифровой фотокамеры Leica DFC 290 (Leica Microsystems, Германия). Для микроскопии были использованы окуляры  $\times 10$ ,  $\times 15$ , объективы  $\times 4$ ,  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ . С каждого исследованного препарата выполняли по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей зрения при  $\times 400$ ,  $\times 1000$ .

При проведении иммуногистохимических исследований стандартными методами использовались антитела Ki-67 – кроличьи поликлональные (Cloud-Clone Corp., КНР), 1:300.

Результаты иммуногистохимической реакции оценивали по доле окрашенных клеток относительно общего количества гепатоцитов. Оценку проводили в 10 полях зрения при  $\times 400$ . На препаратах подсчитывали клетки, окрашенные с помощью антител, затем вычисляли соответствующий индекс как отношение окрашенных клеток к общему числу клеток в процентах (%) [17].

Количественное определение концентрации мелатонина в крови крыс осуществляли методом иммуноферментного анализа при помощи анализатора Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США) с использованием набора реагентов ELISA Kit for Melatonin, CEА908Ge (Cloud-Clone Corp., КНР).

Для статистической обработки полученных данных использовали программное обеспечение IBM SPSS Statistics v. 26.0 (IBM, США). Нормальность распределения количественных переменных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку данные соответствовали нормальному распределению, для их анализа применяли параметрические методы.

Для оценки влияния возраста, экспериментального воздействия (ТД) и введения мелатонина (ТД + мелатонин) на исследуемые параметры (уровень мелатонина в сыворотке, индекс пролиферации Ki-67, доля двуядерных гепатоцитов, профиль плоидности) применяли трехфакторный дисперсионный анализ

(Three-way ANOVA). Факторами были возраст (6, 12, 18, 24 месяца), экспериментальное воздействие (контроль, ТД, ТД + мелатонин) и их взаимодействие. Для пост-хок сравнения групп использовали тест Тьюки.

Для определения независимого вклада уровня мелатонина, возраста и групповой принадлежности в вариабельность параметров регенерации был проведен множественный линейный регрессионный анализ. В модели в качестве предикторов использовали уровень мелатонина (пг/мл), возраст (месяцев) и групповую принадлежность (категориальный предиктор с фиктивным кодированием). Перед анализом проверяли отсутствие мультиколлинеарности между предикторами с помощью коэффициента инфляции дисперсии (VIF); значения VIF <2,0 для всех предикторов подтвердили ее отсутствие.

Для выявления латентных (скрытых) факторов, объясняющих совместную вариацию наблюдаемых переменных, проведен факторный анализ. Использовали метод главных компонент с последующим варимакс-вращением (Varimax) для улучшения интерпретируемости факторов. Количество сохраняемых факторов определяли на основе критерия Кайзера (собственные значения >1).

Во всех видах анализа различия и корреляции считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . В таблицах и на графиках данные представлены как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ).

## Результаты

Проведенный лонгитудинальный анализ концентрации мелатонина в сыворотке крови крыс выявил выраженное влияние как возрастного фактора, так и экспериментальных воздействий (темновая депривация и применение экзогенного мелатонина) на функциональное состояние эпифиза и общий гормональный статус организма.

У животных контрольной группы, содержавшихся в условиях стандартного фотопериода (свет:темнота = 10:14 часов), наблюдалась классическая картина возрастной инволюции эпифизарной функции. В 6 месяцев был зарегистрирован максимальный уровень мелатонина, что отражает оптимальную функциональную активность шишковидной железы у молодых взрослых особей. К годовалому возрасту, соответствующему периоду зрелости, концентрация гормона достоверно снизилась на 25% по сравнению с концентрацией в 6-месячном возрасте, что отражает начало прогрессирующего угасания синтетической активности эпифиза. В 18 месяцев произошло дальнейшее, более резкое снижение уровня мелатонина – почти в 2,5 раза относительно исходного показателя. Данный период характеризуется активным развитием инволюционных процессов. У старых животных уровень мелатонина достиг своего минимального значения (рис. 1).

Воздействие постоянного освещения оказало каталитическое, супрессирующее влияние на продукцию

мелатонина, кардинально изменив его возрастной профиль. Уже через 3 месяца содержания в условиях ТД (с начала эксперимента в возрасте 3 месяцев) уровень мелатонина был значительно ниже, чем у интактных животных того же возраста. Это демонстрирует, что хроническое отсутствие темновой фазы вызывает острую и продолжительную супрессию эпифизарной функции уже в молодом организме. К году жизни в условиях десинхроноза концентрация гормона продолжала снижаться. В зрелом и пожилом возрасте уровень мелатонина оставался предельно низким. Темновая депривация не просто ускоряет снижение мелатонина, а вызывает его острую супрессию в молодом возрасте с последующим поддержанием на стабильно низком, «истощенном» уровне на протяжении всей жизни.

Введение экзогенного мелатонина животным, содержащимся в условиях ТД, привело к принципиально иной, стабилизированной динамике гормонального статуса. Уровень мелатонина в 6 месяцев в данной группе оказался несколько ниже, чем в контрольной, но при этом выше, чем в группе ТД без коррекции. Это указывает на эффективное поступление и усвоение экзогенного гормона, лишь частично компенсирующего физиологическую пиковую секрецию. В 12, 18 и 24 месяца концентрация гормона оставалась на стабильном и высоком уровне. Важно отметить, что показатели в 12, 18 и 24 месяца статистически не отличались от показателей контроля в 6 месяцев, а начиная с 12 месяцев и до конца эксперимента уровень мелатонина в этой группе достоверно превышал показатели стареющих крыс контрольной группы ( $p \leq 0,0005$  в 18 месяцев и 24 месяца). Во все возрастные периоды концентрация гормона в группе ТД + мелатонин была достоверно выше, чем в группе ТД ( $p \leq 0,0005$ ). Длительное пероральное введение мелатонина полностью нивелировало инволюционное снижение его концентрации в крови.

В гепатоцитах животных контрольной группы наблюдалось физиологическое, прогрессирующее снижение индекса Ki-67. В группе ТД в молодом возрасте

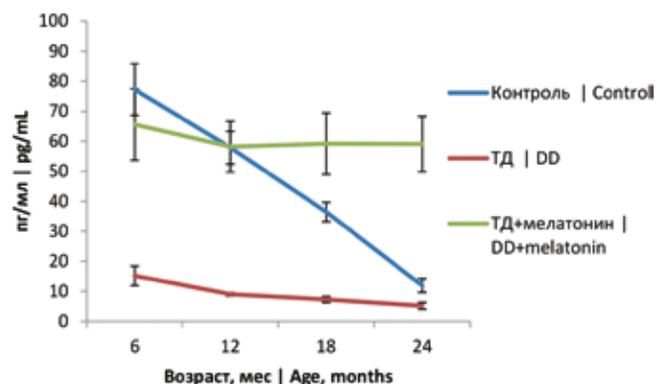


Рис. 1. Динамика уровня мелатонина в крови крыс в онтогенезе

Fig. 1. Melatonin levels in the blood of rats in ontogenesis over time

(6 и 12 месяцев) индекс Ki-67 был достоверно выше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о компенсаторной пролиферации в ответ на темновую депривацию. Однако к 18 месяцам интенсивность пролиферации снижается, и к 24 месяцам она упала до минимальных значений, не отличаясь от таковой в группе контроля. В группе ТД + мелатонин показатели Ki-67 на всех эта-

пах не отличались от показателей животных группы контроля или были ниже, чем в группе ТД, демонстрируя отсутствие стресс-индуцированной гиперпролиферации и сохранение нормального пролиферативного гомеостаза (табл. 1, рис. 2).

В контроле у животных с возрастом происходило закономерное перераспределение пула гепатоцитов:

Таблица 1 | Table 1

Динамика пролиферативной активности гепатоцитов в онтогенезе |  
Dynamics of proliferative activity of hepatocytes during ontogenesis

Возраст (месяцев)   Age (months)	Контроль   Control	ТД   Dark deprivation	ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin
6	1,81±0,05	3,50±0,03*###	1,93±0,17●###
12	1,09±0,03###	3,09±0,50###	0,98±0,17###
18	0,50±0,01###	0,50±0,07###	0,48±0,21###
24	0,10±0,01###	0,07±0,03###	0,01±0,01●###

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой того же возраста. ● –  $p < 0,05$  по сравнению с группой ТД того же возраста. ### –  $p < 0,0005$  по сравнению с предыдущим возрастным периодом внутри той же группы | \* –  $p < 0,05$  compared to the control group of the same age. ● –  $p < 0,05$  compared to the dark deprivation group of the same age. ### –  $p < 0,0005$  compared to the previous age period within the same group

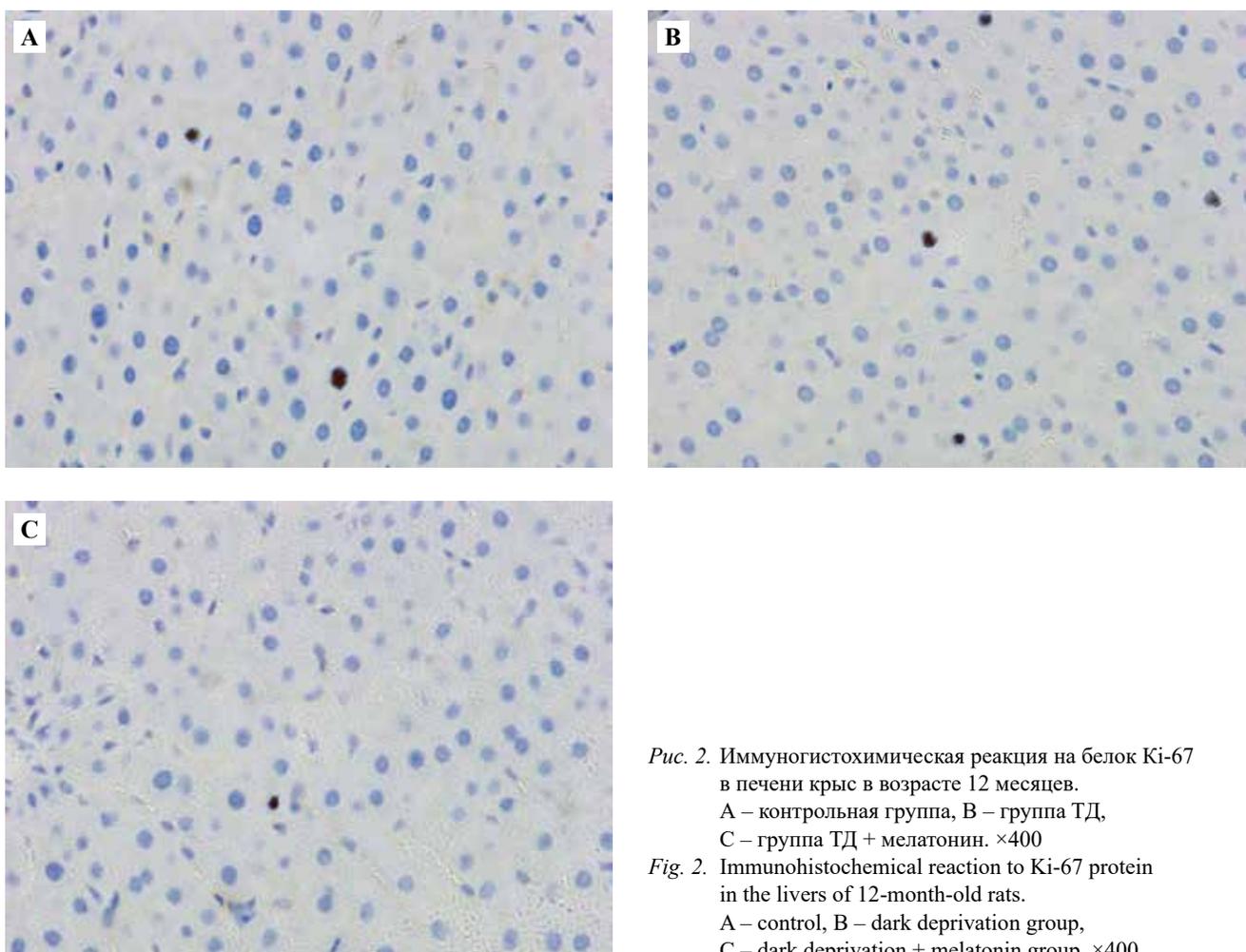


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция на белок Ki-67 в печени крыс в возрасте 12 месяцев.

А – контрольная группа, В – группа ТД, С – группа ТД + мелатонин. ×400

Fig. 2. Immunohistochemical reaction to Ki-67 protein in the livers of 12-month-old rats.

А – control, В – dark deprivation group, С – dark deprivation + melatonin group. ×400

доля диплоидных клеток (2n) снижалась, а доля октоплоидных (8n) возрастала. Средняя ploidy увеличилась с 2,90n до 4,54n. В группе ТД эти процессы были значительно усилены, что указывает на стресс-индуцированную полиплоидизацию. В группе ТД + мелатонин динамика ploidy была максимально приближена к физиологической (табл. 2).

В контрольной группе доля двуядерных гепатоцитов прогрессивно снижалась в течение онтогенеза. ТД оказывала катаболическое влияние на этот пул: доля двуядерных клеток была достоверно ниже на всех этапах,

достигнув минимума к 24 месяцам. Напротив, в группе ТД + мелатонин доля двуядерных гепатоцитов оставалась стабильно высокой на протяжении всей жизни, значимо не снижаясь с возрастом и в 24 месяца, что более чем в 2 раза превышало показатель в группе ТД и было достоверно выше, чем в контрольной (табл. 3, рис. 3).

Для определения вклада уровня мелатонина в вариативность ключевых параметров регенерации проведен множественный регрессионный анализ. В модель включали уровень мелатонина (пг/мл), возраст

Таблица 2 | Table 2

**Динамика средней ploidy гепатоцитов крыс в онтогенезе | Dynamics of average hepatocyte ploidy in rats during ontogenesis**

Плоидность   Ploidy	Группа   Group	6 месяцев   6 months	12 месяцев   12 months	18 месяцев   18 months	24 месяца   24 months
2n	Контроль   Control	85,2±3,1	78,5±4,3###	72,1±5,6#	65,8±6,2###
	ТД   Dark deprivation	88,9±2,8	84,3±3,9#	79,6±4,7#	74,1±5,1###
	ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin	83,5±3,5	76,8±4,8###	75,3±5,2	70,2±5,9#
4n	Контроль   Control	12,5±2,8	18,3±3,9###	23,6±5,1#	28,9±5,8#
	ТД   Dark deprivation	9,8±2,4	13,5±3,5#	17,2±4,2#	21,5±4,9###
	ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin	14,1±3,1	20,1±4,2###	21,4±4,8	25,7±5,5#
8n	Контроль   Control	2,3±0,9	3,2±1,2	4,3±1,8	5,3±2,1
	ТД   Dark deprivation	1,3±0,7	2,2±1,0	3,2±1,5	4,4±1,9#
	ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin	2,4±1,1	3,1±1,4	3,3±1,6	4,1±1,8

\* –  $p \leq 0.05$  по сравнению с контрольной группой того же возраста. # –  $p \leq 0.05$  по сравнению с предыдущим возрастным периодом внутри той же группы. ### –  $p \leq 0.0005$  по сравнению с предыдущим возрастным периодом внутри той же группы | \* –  $p \leq 0.05$  compared to the control group of the same age. # –  $p \leq 0.05$  compared to the previous age period within the same group. ### –  $p \leq 0.0005$  compared to the previous age period within the same group

Таблица 3 | Table 3

**Динамика доли двуядерных гепатоцитов (%) в печени крыс в онтогенезе | Dynamics of the proportion of binucleated hepatocytes (%) in the liver of rats during ontogenesis**

Возраст (месяцев)   Age (months)	Контроль   Control	ТД   Dark deprivation	ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin
6	10,08±1,63	5,82±0,68*###	12,21±1,47●###
12	6,96±0,78###	2,88±0,50###	10,08±1,34●###
18	7,80±0,65#	2,98±0,61	9,71±2,28●
24	4,20±0,54###	1,99±0,40###	8,82±1,14●###

\* –  $p \leq 0.05$  по сравнению с контрольной группой того же возраста. ● –  $p \leq 0.05$  по сравнению с группой ТД того же возраста. # –  $p \leq 0.05$  по сравнению с предыдущим возрастным периодом внутри той же группы. ### –  $p \leq 0.0005$  по сравнению с предыдущим возрастным периодом внутри той же группы | \* –  $p \leq 0.05$  compared to the control group of the same age. ● –  $p \leq 0.05$  compared to the dark deprivation group of the same age. # –  $p \leq 0.05$  compared to the previous age period within the same group. ### –  $p \leq 0.0005$  compared to the previous age period within the same group

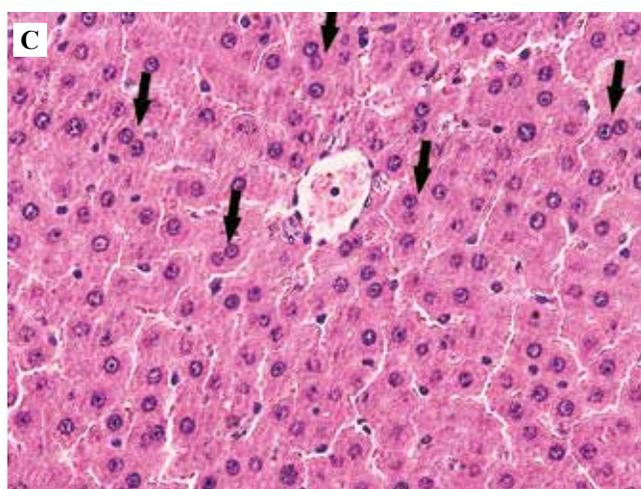
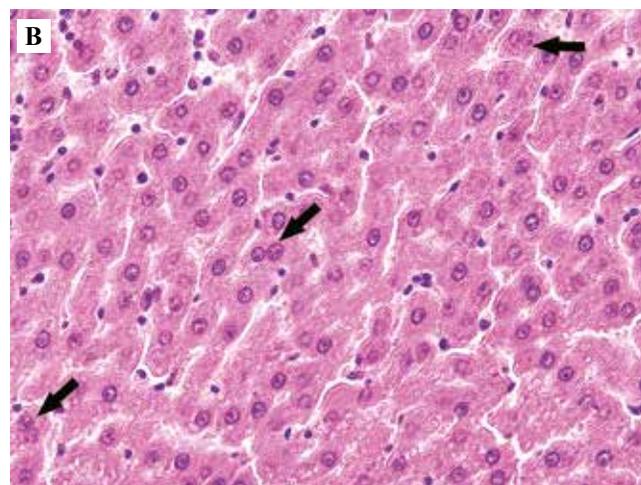
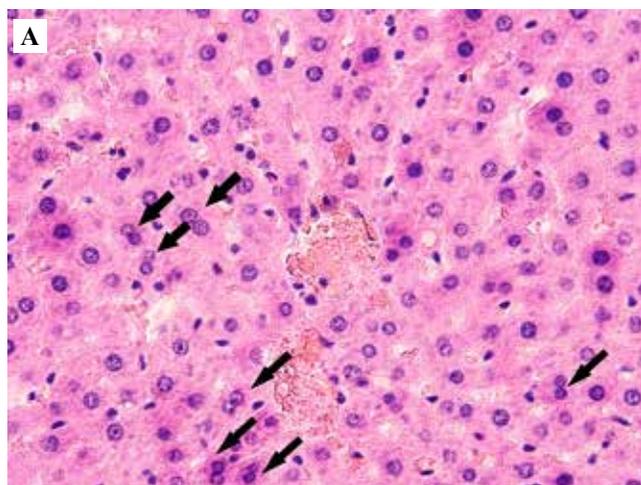


Рис. 3. Печень крыс в возрасте 18 месяцев.

А – контрольная группа, В – группа ТД, С – группа ТД + мелатонин. Двухъядерные гепатоциты (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$

Fig. 3. Livers of 18-month-old rats. А – control, В – dark deprivation group, С – dark deprivation + melatonin group. Binucleated hepatocytes (arrows). H&E stain,  $\times 400$

(месяцев) и групповую принадлежность (категориальный предиктор) (табл. 4).

Регрессионный анализ демонстрирует, что уровень мелатонина является наиболее сильным независимым предиктором для доли двухъядерных гепатоцитов ( $\beta=0,62$ ) и доли  $8n$  клеток ( $\beta=-0,58$ ), превосходя по силе влияния даже возрастной фактор. Это означает, что при прочих равных условиях (возраст и группа) более высокий уровень мелатонина статистически предсказывает большую долю двухъядерных гепатоцитов и меньшую долю полиплоидных клеток. Для индекса Ki-67 вклад мелатонина был статистически значимым, но менее выраженным, чем вклад возраста крыс и групповой принадлежности (фактор ТД).

Для выявления взаимосвязей между всеми исследованными клеточными параметрами проведен комплексный корреляционный анализ. Учитывая сильное влияние возраста на все параметры, рассчитывались коэффициенты частной корреляции Пирсона при фиксированном влиянии возраста.

Анализ корреляционной матрицы выявил сложную сеть статистически значимых взаимосвязей. Доля двухъядерных гепатоцитов демонстрировала сильную по-

ложительную связь с уровнем мелатонина ( $r=0,79$ ,  $p<0,001$ ), умеренную положительную связь с пролиферативной активностью ( $r=0,42$ ,  $p<0,001$ ) и сильную отрицательную связь с маркерами полиплоидизации: долей  $8n$  клеток ( $r=-0,81$ ,  $p<0,001$ ) и средней плоидностью ( $r=-0,78$ ,  $p<0,001$ ). Параметры, характеризующие полиплоидизацию (доля  $8n$  клеток и средняя плоидность), демонстрировали между собой очень сильную положительную корреляцию ( $r=0,95$ ,  $p<0,001$ ), что указывает на их тесную функциональную взаимосвязь и возможность использования любого из них как интегрального маркера процесса полиплоидизации.

Пролиферативная активность (Ki-67) показала наиболее слабые, но статистически значимые связи с другими параметрами. В частности, обнаружены положительная корреляция с долей двухъядерных гепатоцитов ( $r=0,42$ ,  $p<0,001$ ) и отрицательные корреляции с параметрами полиплоидии ( $r=-0,38$  и  $r=-0,42$ ,  $p<0,01$ ) (табл. 5).

Для выявления латентных факторов, объясняющих совместную вариацию наблюдаемых переменных, проведен факторный анализ с варимакс-вращением (табл. 6).

Таблица 4 | Table 4

Результаты множественного регрессионного анализа. Зависимые переменные: параметры регенеративного потенциала |  
Results of multiple regression analysis. Dependent variables: parameters of regenerative potential

Зависимая переменная   Dependent variable	Предиктор   Predictor	Стандартизированный коэффициент (β)   Standardized coefficient (β)	t-значение   t-value	p-значение   p-value	Доля объясненной дисперсии (R <sup>2</sup> )   Proportion of variance explained (R <sup>2</sup> )
Доля двуядерных гепатоцитов, %   The proportion of binucleated hepatocytes, %	Модель   Model	–	–	<0,001	0,71
	Мелатонин   Melatonin	0,62	12,45	<0,001	
	Возраст   Age	–0,28	–5,61	<0,001	
	Группа ТД   Dark deprivation group	–0,15	–3,01	0,003	
	Группа ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin group	0,21	4,20	<0,001	
Доля 8n клеток, %   Proportion of 8n cells, %	Модель   Model	–	–	<0,001	0,67
	Мелатонин   Melatonin	–0,58	–11,15	<0,001	
	Возраст   Age	0,31	5,95	<0,001	
	Группа ТД   Dark deprivation group	0,18	3,46	<0,001	
	Группа ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin group	–0,24	–4,61	<0,001	
Индекс Ki-67   Ki-67 index	Модель   Model	–	–	<0,001	0,58
	Мелатонин   Melatonin	0,18	3,15	0,002	
	Возраст   Age	–0,65	–11,39	<0,001	
	Группа ТД   Dark deprivation group	0,41	7,18	<0,001	
	Группа ТД + мелатонин   Dark deprivation + melatonin group	–0,09	–1,58	0,115	

Модель проверена на мультиколлинеарность (VIF <2,0 для всех предикторов) | The model was tested for multicollinearity (VIF <2.0 for all predictors)

Таблица 5 | Table 5

Матрица частных корреляций (с контролем по возрасту) между клеточными параметрами регенеративного потенциала печени | Matrix of partial correlations (age-controlled) between cellular parameters of the liver regenerative potential

Параметр   Parameter	Уровень мелатонина   Melatonin level	Доля двуядерных гепатоцитов, %   The proportion of binucleated hepatocytes, %	Индекс Ki-67   Ki-67 index	Доля 8n клеток   The proportion of 8n cells	Средняя ploидность   Average ploidy
Уровень мелатонина   Melatonin level	1				
Доля двуядерных гепатоцитов %   Proportion of binucleated hepatocytes, %	0,79***	1			
Индекс Ki-67   Ki-67 index	0,25*	0,42***	1		
Доля 8n клеток   The proportion of 8n cells	–0,75***	–0,81***	–0,38**	1	
Средняя ploидность   Average ploidy	–0,71***	–0,78***	–0,42***	0,95***	1

\* – p≤0.05 по сравнению с контрольной группой того же возраста. \*\* – p≤0.005 по сравнению с контрольной группой того же возраста. \*\*\* – p≤0.0005 по сравнению с контрольной группой того же возраста | \* – p≤0.05 compared to the control group of the same age. \*\* – p≤0.005 compared to the control group of the same age. \*\*\* – p≤0.0005 compared to the control group of the same age

Результаты факторного анализа (матрица факторных нагрузок после вращения Varimax) | Factor analysis results (factor loading matrix after Varimax rotation)

Параметр   Parameter	Фактор 1 сенесценция   Factor 1 senescence	Фактор 2 регенерация   Factor 2 regeneration	Общность (h <sup>2</sup> )   Generality (h <sup>2</sup> )
Доля 8n клеток   Proportion of 8n cells	0,94	-0,18	0,91
Средняя ploидность   Average ploidy	0,92	-0,21	0,89
Доля двуядерных гепатоцитов   Proportion of binucleated hepatocytes	-0,24	0,87	0,81
Уровень мелатонина   Melatonin level	-0,19	0,85	0,75
Индекс Ki-67   Ki-67 index	-0,31	0,58	0,43
Собственное значение   Eigenvalue	2,45	1,63	–
Доля дисперсии, %   Proportion of variance, %	49,0%	32,6%	81,6%

Анализ выявил два независимых фактора, которые в совокупности объясняют 81,6% общей дисперсии данных. Фактор 1 – сенесценция (49,0% дисперсии), высокие положительные нагрузки: доля 8n клеток (0,94), средняя ploидность (0,92) – отражает процесс клеточного старения через полиплоидизацию.

Фактор 2 – регенерация (32,6% дисперсии), высокие положительные нагрузки: доля двуядерных гепатоцитов (0,87), уровень мелатонина (0,85), индекс Ki-67 (0,58) – отражает регенеративный потенциал печени.

### Обсуждение

Полученные данные убедительно демонстрируют, что хронический десинхронизм, смоделированный посредством темновой депривации, не просто ускоряет возрастное снижение регенеративной функции печени, но и существенно изменяет клеточные стратегии ее поддержания, смещая баланс от физиологического обновления в сторону полиплоидизации.

Наши сведения о прогрессирующем снижении уровня мелатонина в контрольной группе полностью согласуются с общепризнанной концепцией возрастной инволюции эпифиза [14]. Падение концентрации гормона с пиковых значений в 6 месяцев до минимальных в 24 месяца отражает постепенное угасание функции шишковидной железы, что рассматривается как один из интегральных маркеров старения организма. Однако, как показали результаты, темновая депривация вызывает не просто ускорение этого процесса, а острую супрессию синтеза мелатонина уже в молодом возрасте. Этот эффект является прямым следствием отсутствия темновой фазы – ключевого стимула для выработки мелатонина эпифизом [9]. Таким образом, хронический десинхронизм создает состояние перманентного тотального дефицита мелатонина, при котором орга-

низм лишается этого важнейшего хронобиотика и антиоксиданта на протяжении большей части жизни.

В группе ТД + мелатонин удалось не только полностью компенсировать индуцированный дефицит гормона, но и поддерживать его стабильную физиологическую концентрацию на всем протяжении эксперимента, нивелировав тем самым как эффект темновой депривации, так и естественную возрастную инволюцию. Стабильно высокий уровень мелатонина в возрасте 18 и 24 месяцев, достоверно превышающий таковой у стареющих животных контрольной группы, указывает на то, что экзогенный мелатонин может рассматриваться как мощное геропротекторное средство, способное корригировать один из фундаментальных механизмов старения.

Возрастное снижение индекса пролиферации Ki-67 в гепатоцитах крыс контрольной группы является ожидаемым и хорошо документированным феноменом, в основе которого лежат накопление повреждений ДНК, активация путей клеточного старения (p16INK4a, p21CIP1) и эпигенетические изменения [18, 19]. Тем не менее выявленная нами динамика в условиях ТД имеет более сложный, двухфазный характер. Компенсаторное повышение пролиферативной активности у молодых животных (6 и 12 месяцев) в группе ТД может быть интерпретировано как попытка органа противостоять стрессу, индуцированному десинхронизмом. Постоянное освещение является мощным стресс-фактором, приводящим к оксидативному стрессу, нарушению метаболизма и, вероятно, субклиническому повреждению гепатоцитов [15]. В ответ на это печень молодых животных, еще обладающая значительным пролиферативным резервом, запускает механизмы компенсаторной регенерации, но уже к 18 месяцам пролиферативная активность в печени крыс группы ТД падает до уров-

ня контроля, а к 24 месяцам достигает минимальных значений.

В группе ТД + мелатонин пролиферативная активность на всех этапах исследования не отличалась от показателей животных контрольной группы или была ниже, чем в группе ТД. Это свидетельствует о том, что мелатонин, обладая мощным антиоксидантным и антистрессовым действием [10, 11], предотвращает необходимость в компенсаторной гиперпролиферации, тем самым способствуя сохранению пролиферативного резерва гепатоцитов и поддерживая гомеостаз на физиологическом уровне.

Полученные данные по динамике плоидности полностью соответствуют современной гипотезе, что полиплоидизация является не только зависимым от возраста процессом, но и адаптационным ответом на хронический стресс [3, 4]. В контрольной группе наблюдалось ожидаемое возрастное перераспределение: снижение доли диплоидных гепатоцитов (2n) и увеличение доли тетра- (4n) и октоплоидных (8n). Однако в группе ТД этот процесс был значительно усилен. Крайне высокая доля октоплоидных клеток (39,16% против 25,14% у контрольных животных к 24 месяцам) и максимальная средняя плоидность (5,16n) указывают на то, что темновая депривация выступает мощным катализатором полиплоидизации.

Этот факт можно объяснить несколькими взаимосвязанными механизмами. Во-первых, десинхроноз нарушает координацию между клеточным циклом и циркадными часами. Гены циркадного ритма тесно связаны с регуляцией ключевых точек клеточного цикла, и их дисфункция может приводить к нарушению цитокинеза, способствуя образованию двуядерных и впоследствии полиплоидных клеток [20]. Во-вторых, дефицит мелатонина лишает гепатоциты мощного антиоксиданта, что ведет к накоплению повреждений ДНК. Полиплоидизация в этом контексте может быть стратегией выживания, позволяющей клетке с множественными копиями генома поддерживать функцию в условиях стресса и избегать апоптоза [9]. Однако эта стратегия имеет и неблагоприятный аспект: полиплоидные клетки, особенно октоплоидные, обладают пониженной способностью к пролиферации и чаще вступают на путь сенесценции [21, 22]. Таким образом, выявленная гиперполиплоидизация в группе ТД может рассматриваться как маркер ускоренного старения и снижения пластичности печени. Применение мелатонина полностью предотвратило это перераспределение. Профиль плоидности в группе ТД + мелатонин был максимально приближен к физиологическому, а доля высокоплоидных клеток достоверно ниже, чем в группе ТД. Это прямо указывает на то, что мелатонин, восстанавливая циркадную регуляцию и обеспечивая антиоксидантную защиту, смещает клеточный баланс от стратегии выживания через полиплоидизацию обратно к стратегии поддержания пролиферативной компетентности.

Возрастное и стресс-индуцированное снижение регенеративного потенциала печени, согласно полученным результатам, в первую очередь проявляется в изменении пула двуядерных гепатоцитов. Прогрессивное снижение доли этих клеток у животных в контроле согласуется с материалами литературы [8] и отражает общую возрастную инволюцию. Однако катаболический эффект темновой депривации был выражен намного сильнее: доля двуядерных гепатоцитов в группе ТД была достоверно ниже на всех этапах онтогенеза, чем в группе контроля. В группе ТД + мелатонин доля двуядерных гепатоцитов не снижалась с возрастом и оставалась стабильно высокой, существенно превышая показатели как группы ТД, так и контрольной группы в возрасте 24 месяцев. Это позволяет рассматривать двуядерные гепатоциты не просто как пассивный промежуточный продукт незавершенного митоза, а как динамичный, регулируемый пул функционально значимых клеток, находящийся под строгим контролем циркадной системы и мелатонина.

Сильнейшая положительная корреляция между уровнем мелатонина и долей двуядерных гепатоцитов ( $r=0,79$ ), выявленная в регрессионном и корреляционном анализе, подтверждает такую гипотезу. Можно предположить несколько механизмов этого влияния. Во-первых, мелатонин, регулируя экспрессию часовых генов в печени, может напрямую влиять на молекулярные машины, контролирующие цитокинез. Во-вторых, его антиоксидантные свойства могут защищать клетки от повреждений, которые делают завершение митоза невозможным. В-третьих, поддерживая пул двуядерных гепатоцитов, мелатонин сохраняет альтернативный путь для обновления паренхимы. Двуядерный гепатоцит, в зависимости от сигналов микроокружения, может либо завершить митоз, дав два диплоидных потомка, либо пройдя через эндомитоз, стать полиплоидным [6, 7]. Таким образом, высокий пул двуядерных гепатоцитов – это индикатор высокой пластичности печеночной ткани, ее готовности к регенерации по разным сценариям. Мелатонин, поддерживая этот пул, фактически сохраняет «молодость» и гибкость регенеративного ответа печени.

Информативными оказались результаты факторного анализа, который выявил два независимых латентных фактора, объясняющих более 80% общей дисперсии данных.

Фактор 1, сенесценция, с высокими нагрузками по доле 8n клеток и средней плоидности, интегрально отражает процесс клеточного старения. Высокие значения по этому фактору характерны для старых животных и, что особенно важно, для группы ТД, что подтверждает роль десинхроноза как драйвера ускоренного старения.

Фактор 2, регенерация, с высокими нагрузками по доле двуядерных гепатоцитов и уровню мелатонина и умеренной по индексу Ki-67, отражает собственно регенеративный потенциал органа. Высокие значения

по этому фактору ассоциированы с молодым возрастом и, что критически важно, с показателями группы животных, получавших мелатонин.

Отрицательные нагрузки параметров полиплоидизации на факторе регенерация и положительные на факторе сенесценция (и наоборот для параметров регенеративного пула) демонстрируют антагонистическую взаимосвязь двух процессов. Это означает, что в стареющей печени, особенно в условиях десинхроноза, происходит системный сдвиг от регенеративной стратегии к сенесцентной. Мелатонин же, судя по результатам группы ТД + мелатонин, способен противодействовать данному сдвигу, поддерживая систему в состоянии, характерном для более молодого возраста.

### Заключение

Хронический десинхроноз (темновая депривация) действует как модель ускоренного старения печени, вызывая преждевременное снижение митотической активности, патологическую полиплоидизацию и сокращение пула двуядерных гепатоцитов. Дефицит мелатонина является центральным звеном в патогенезе этих нарушений, что подтверждается его сильнейшими корреляциями с ключевыми клеточными параметрами. Экзогенный мелатонин не просто корригирует вызванные десинхронозом нарушения, а активно модулирует клеточный гомеостаз, поддерживая фенотип печени, характерный для более молодого возраста. Его способность сохранять пул двуядерных гепатоцитов указывает на уникальный механизм поддержания регенеративной пластичности органа. Многомерный анализ статистически подтвердил существование двух антагонистических процессов – регенерации и сенесценции, баланс между которыми определяет специфику регенеративного потенциала печени на онтогенезе и эффективно смещается в благоприятную сторону под действием мелатонина. Таким образом, длительная терапия мелатонином может рассматриваться как перспективная геропротекторная стратегия для замедления возрастного снижения функции печени и профилактики связанных с возрастом гепатопатий, особенно в условиях современного образа жизни, сопряженного с широко распространенным «световым загрязнением» и циркадным десинхронозом.

### Ограничения исследования

В статье описаны клеточные параметры, но нет данных о биохимических показателях крови (АЛТ, АСТ, билирубин, щелочная фосфатаза) или о функциональных тестах печени. Неизвестно, насколько выявленные клеточные изменения коррелировали с нарушением синтетической или детоксикационной функции органа.

Исследование проведено на самцах крыс. Это стандартный подход для исключения влияния эстрального цикла у самок, но он ограничивает экстраполяцию результатов на оба пола, поскольку известно о половых различиях в метаболизме и реакции на мелатонин.

Постоянное освещение – мощный, но крайний вариант десинхроноза. Реальные условия жизни человека (сменная работа, «световое загрязнение», джетлаг) обычно подразумевают менее выраженный, но хронический сдвиг ритмов. Неясно, в какой мере модель темновой депривации воспроизводит эти ситуации.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.А. Арешидзе.  
Сбор и обработка материала – М.А. Козлова, А.И. Ануркина.  
Написание текста – Д.А. Арешидзе.  
Редактирование – Д.А. Арешидзе.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.A. Areshidze.  
Collected the data and performed the analysis – M.A. Kozlova, A.I. Anurkina.  
Wrote the paper – D.A. Areshidze.  
Edited the manuscript – D.A. Areshidze.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

### Литература/References

1. Kim JY, Choi H, Kim HJ, Jee Y, Noh M, Lee MO. Polyploidization of hepatocytes: insights into the pathogenesis of liver diseases. *Biomol Ther (Seoul)*. 2022;30(5):391–8. DOI: 10.4062/biomolther.2022.070.
2. Matsumoto T, Wakefield L, Tarlow BD, Grompe M. In vivo lineage tracing of polyploid hepatocytes reveals extensive proliferation during liver regeneration. *Cell Stem Cell*. 2020;26(1):34–47.e3. DOI: 10.1016/j.stem.2019.11.014.
3. Donne R, Saroul-Ainama M, Cordier P, Celton-Morizur S, Desdouets C. Polyploidy in liver development, homeostasis and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(7):391–403. DOI: 10.1038/s41575-020-0284-x.
4. Zhang S, Zhou K, Luo X, Li L, Tu HC, Sehgal A et al. The polyploid state plays a tumor-suppressive role in the liver. *Dev Cell*. 2018;44(4):447–59.e5. DOI: 10.1016/j.devcel.2018.01.010.
5. Wilson SR, Duncan AW. The ploidy state as a determinant of hepatocyte proliferation. *Semin Liver Dis*. 2023;43(4):460–71. DOI: 10.1055/a-2211-2144.
6. Wang MJ, Chen F, Lau JTY, Hu YP. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death Dis*. 2017;8(5):e2805. DOI: 10.1038/cddis.2017.167.
7. Wang B, Zhao L, Fish M, Logan CY, Nusse R. Self-renewing diploid Axin2(+) cells fuel homeostatic renewal of the liver. *Nature*. 2015;524(7564):180–5. DOI: 10.1038/nature14863.
8. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(1):40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4.
9. Anisimov VN. Light pollution, reproductive function and cancer risk. *Neuro Endocrinol Lett*. 2006;27(1-2):35–52. PMID: 16648818.
10. Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Galano A, Zhou XJ, Xu B. Mitochondria: central organelles for melatonin's antioxidant and anti-aging actions. *Molecules*. 2018;23(2):509. DOI: 10.3390/molecules23020509.

11. *Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC et al.* Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(16):2997–3025. DOI: 10.1007/s00018-014-1579-2.
12. *Hong F, Pan S, Guo Y, Xu P, Zhai Y.* PPARs as nuclear receptors for nutrient and energy metabolism. *Molecules.* 2019;24(14):2545. DOI: 10.3390/molecules24132545.
13. *Sun H, Wang X, Chen J, Song K, Gusdon AM, Li L et al.* Melatonin improves non-alcoholic fatty liver disease via MAPK-JNK/P38 signaling in high-fat-diet-induced obese mice. *Lipids Health Dis.* 2016;15(1):202. DOI: 10.1186/s12944-016-0370-9.
14. *Karasek M.* Melatonin, human aging, and age-related diseases. *Exp Gerontol.* 2004;39(11-12):1723–9. DOI: 10.1016/j.exger.2004.04.012.
15. *Fonken LK, Workman JL, Walton JC, Weil ZM, Morris JS, Haim A et al.* Light at night increases body mass by shifting the time of food intake. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(43):18664–9. DOI: 10.1073/pnas.1008734107.
16. *Автандилов Г.Г.* Диагностическая медицинская плоидометрия: Учебное пособие. Москва: Медицина, 2006. 192 с. *Avtandilov GG.* Diagnostic medical ploidyometry: A study guide. Moscow: Meditsina; 2006. 192 p. (In Russ.).
17. *Rubin Grandis J, Melhem MF, Barnes EL, Tweardy DJ.* Quantitative immunohistochemical analysis of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer.* 1996;78(6):1284–92. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960915)78:6<1284::AID-CNCR17>3.0.CO;2-X.
18. *Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C et al.* Cellular senescence: defining a path forward. *Cell.* 2019;179(4):813–27. DOI: 10.1016/j.cell.2019.10.005.
19. *López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G.* Hallmarks of aging: an expanding universe. *Cell.* 2023;186(2):243–78. DOI: 10.1016/j.cell.2022.11.001.
20. *Reinke H, Asher G.* Crosstalk between metabolism and circadian clocks. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(4):227–41. DOI: 10.1038/s41580-018-0096-9.
21. *Meijnikman AS, Herrema H, Scheithauer TPM, Kroon J, Nieuw-dorp M, Groen AK.* Evaluating causality of cellular senescence in non-alcoholic fatty liver disease. *JHEP Rep.* 2021;3(4):100301. DOI: 10.1016/j.jhepr.2021.100301.
22. *Wang MJ, Chen F, Lau JTY, Hu YP.* Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death Dis.* 2017;8(5):e2805. DOI: 10.1038/cddis.2017.167.

### Информация об авторах

Давид Александрович Арешидзе – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Мария Александровна Козлова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Анна Игоревна Ануркина – научный сотрудник лаборатории патологии клетки НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

### Author information

David A. Areshidze – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0003-3006-6281>

Maria A. Kozlova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0001-6251-2560>

Anna I. Anurkina – Researcher, Laboratory of Cell Pathology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0009-0003-0011-1114>