

© Е. И. Чумасов, Е. С. Петрова, Д. Э. Коржевский, 2015  
УДК 611.37.018:612.67:599.323.4

*Е. И. Чумасов<sup>1,2</sup>, Е. С. Петрова<sup>1</sup>, Д. Э. Коржевский<sup>1,3</sup>*

## ИЗМЕНЕНИЯ ОСТРОВКОВ И НЕРВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ У КРЫСЫ ПРИ СТАРЕНИИ (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

<sup>1</sup> Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург; <sup>2</sup> кафедра биологии, экологии, гистологии (зав. — канд. вет. наук В. С. Иванов), Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины; <sup>3</sup> кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий (зав. — проф. А. Н. Суворов), Санкт-Петербургский государственный университет

С помощью иммуногистохимических реакций на синаптофизин (СФ), тирозингидроксилазу (ТГ) и белковый генный продукт 9.5 (PGP 9.5) изучали нервный аппарат и эндокринную часть поджелудочной железы (ПЖ) у крыс линии Вистар в возрасте 3–4 и 19 мес (n=24). В связи с тем, что СФ и PGP 9.5 обладают высокой селективностью выявления эндокриноцитов панкреатических островков (ПО), удалось исследовать топографию и плотность их расположения во всех отделах ПЖ. Установлено, что у крыс в возрасте 19 мес наблюдается снижение общего количества ПО по сравнению с таковым у молодых животных. Исследование распределения ПО по размерам показало, что с возрастом уменьшается число крупных островков. У молодых животных выявлена обильная иннервация ПЖ, представленная тремя нервными сплетениями: одно широкопетлистое — состоит из нервных стволиков и пучков миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, второе — из тонких постаганглионарных пучков аксонов и микроганглиев и третье (основное концевое сплетение) — из аксонов с варикозными расширениями и синапсами типа en passant. У старых крыс отмечены дистрофические изменения нейронов интрамуральных ганглиев, нервных стволов и пучков, уменьшение или полное отсутствие СФ- и ТГ-позитивных эфферентных парасимпатических и симпатических терминалей вокруг кровеносных сосудов, выводных протоков, денервация экзокринной и эндокринной частей ПЖ. На фоне нарушения иннервации в некоторых долях наблюдались мелкоочаговые воспалительные инфильтраты вблизи сосудов.

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, панкреатические островки, автономная иннервация, старение, иммуногистохимия

В последние годы интенсивно проводятся исследования строения тканей поджелудочной железы (ПЖ) не только общегистологическими, но и иммуногистохимическими методами [11, 12, 15–18]. Продолжается выяснение топографии островков в различных частях ПЖ, уточняются их клеточный состав, природа и функции эндокриноцитов, взаимоотношения с окружающими структурами, включая ацинусы, микрососуды, нервные элементы как в нормальных условиях жизнедеятельности, так и при патологии органа [5–8, 16].

Морфологические особенности эндокринного аппарата в связи с иннервацией тканей ПЖ при нарушении ее функций еще недостаточно изучены. Важное значение для клинической практики имеют работы, посвященные изучению изменений строения эндокринного аппарата ПЖ при раз-

личных заболеваниях человека, таких как хронический панкреатит [7], сахарный диабет 1-го и 2-го типов [1, 6, 10], эндокринные опухоли [16]. Существенный интерес в практическом и теоретическом отношении представляют исследования, выполненные на лабораторных животных на моделях сахарного диабета, интоксикации или механической травмы. Имеются лишь единичные исследования иннервации ПЖ при старении, выполненные с применением современных иммуногистохимических маркеров [6]. Недостаточно изученными остаются вопросы нарушения автономной иннервации тканей ПЖ в норме, патологии и в онтогенезе.

Цель настоящей работы — изучение изменений островков и нервного аппарата ПЖ крысы в процессе старения.

### Сведения об авторах:

Чумасов Евгений Иванович (e-mail: [ua1ct@mail.ru](mailto:ua1ct@mail.ru)), Петрова Елена Сергеевна, Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: [iemmorphol@iem.spb.ru](mailto:iemmorphol@iem.spb.ru)), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

Материал и методы. Работа проведена на крысах линии Вистар ( $n=24$ ) без учета половых различий в возрасте 3–4 (молодые) и 19 мес (старые животные) в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 775 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Животных умерщвляли передозировкой паров этилового эфира, ПЖ брали целиком (вместе с окружающей жировой тканью) и фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [3]. После заливки в парафин из всех частей ПЖ готовили срезы толщиной 5 мкм. Часть срезов окрашивали толуидиновым синим по Нисслю и гематоксилином — эозином. Для выявления нервного аппарата применяли методы иммуногистохимии. Для селективного выявления синаптических терминалей и эндокринных клеток островков применяли поликлональные кроличьи антитела к синаптофизину (СФ) (1:250, DAKO, Дания) [8], для выявления симпатических нервных волокон — поликлональные кроличьи антитела к тирозингидроксилазе (ТГ) (1: 1000, Abcam, Великобритания) [3]. Для выявления парасимпатических структур и панкреатических островков (ПО) использовали поликлональные кроличьи антитела к белку PGP 9.5 (белковый генный продукт 9.5) (1:200, Spring Bioscience, США) [4]. В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора Super Sensitive Polymer-HRP Detection System (Bio Genex, США) и реактивы из набора EnVision+System Labeled Polymer-HRP Anti-Mouse (K4001) (Dako, Дания).

Количественный анализ ПО осуществляли на цифровых изображениях, полученных с помощью микроскопа Leica DM 750 и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica, Германия). Подсчитывали число ПО при ув. 100, определяли площадь их сечения при ув.400. У каждого животного подсчет проводили на 8 цифровых изображениях, общая площадь которых составила 10,4 мм<sup>2</sup>. Для подсчета числа ПО и измерения их площадей использовали программу ImageJ (НИН, США). Различия оценивали по t-критерию и считали значимыми при  $P < 0,05$ .

Результаты исследования. На срезах, сделанных через все отделы ПЖ у молодых крыс при использовании реакций на СФ и PGP 9.5, на светлом фоне экзокринной части отчетливо выделяются не только крупные, средние и мелкие островки, но и небольшие группы эндокриноцитов и даже одиночные клетки (рис. 1, а). Размеры ПО и плотность их расположения в различных отделах ПЖ значительно варьируют. Большая часть крупных и средних ПО сосредоточены в области тела ПЖ, в то время как в головке и хвосте их размеры меньше и расположены они реже.

При использовании PGP 9.5 все клетки ПО иммунопозитивны, но имеют разную степень интенсивности окраски. Мелкие клетки размером 6–9 мкм имеют интенсивно окрашенную мелкозернистую цитоплазму и различную форму: округлую, вытянутую, треугольную, часть из них снабжены короткими отросткам. Эти клетки располагаются, как правило, по периферии ПО (см. рис. 1, б, в). В некоторых местах можно видеть проникновение их отростков между тесно прилегающими к ним эндокриноцитами, составляющими основную массу клеток ПО. В этих клетках поли-

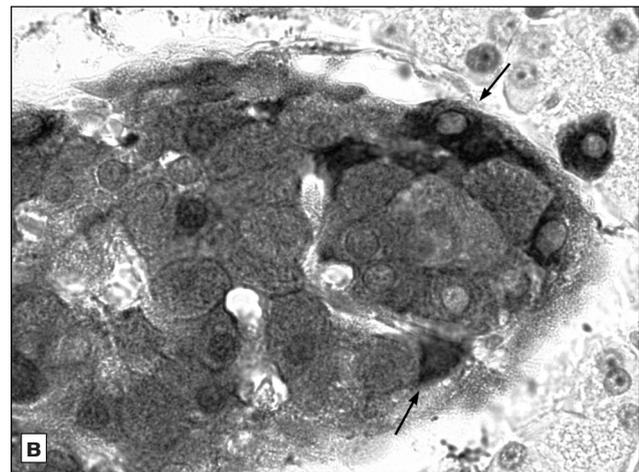
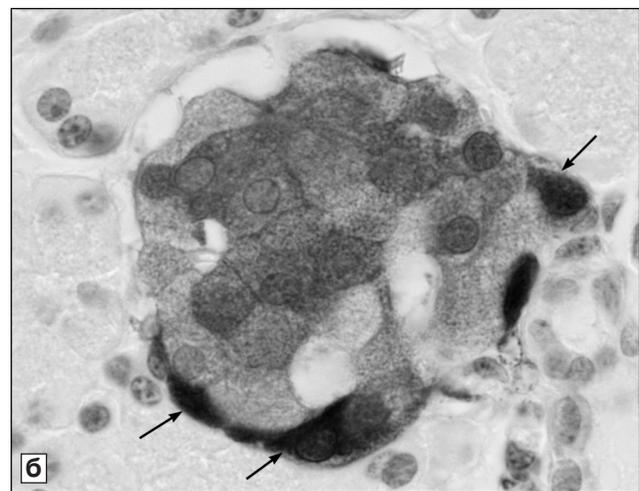
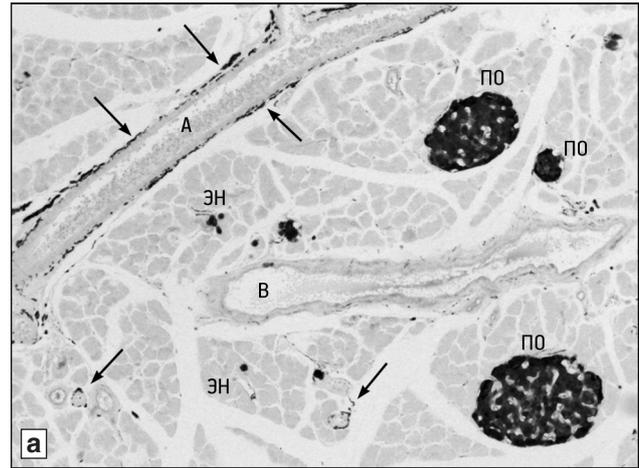


Рис. 1. Нервные сплетения и островки в поджелудочной железе у молодых крыс.

а — фрагменты нервного сплетения вокруг сосудов (стрелки); панкреатические островки (ПО) различных размеров; небольшие группы эндокриноцитов (ЭН); б, в — полиморфные ЭН «темные клетки», располагающиеся по периферии ПО (стрелки). А — артерия, В — вена. Иммуногистохимические реакции: а — на синаптофизин, б — на PGP 9.5. Ув.: а — 100; б, в — 1000

гональной формы интенсивность реакции умеренная: от слабой до средней и не достигает такой интенсивности, как в клетках, располагающихся

по периферии ПО. Они имеют более крупные размеры (до 10–15 мкм), а в их цитоплазме содержится диффузная зернистость.

Обнаружено, что у старых крыс в возрасте 19 мес значительно снижается общее количество ПО по сравнению с таковым у молодых животных (рис. 2).

Исследование распределения количества ПО по размерам у молодых и старых крыс показало, что с возрастом уменьшается число именно крупных ПО (рис. 3). Наблюдаются атрофия многих ПО, реорганизация и изменение их клеточного состава. В некоторых ПО, отделенных от экзокринной части железы тонкой соединительнотканной оболочкой, наблюдаются уменьшение числа мелких темных клеток и смещение некоторых из них в центр островка (рис. 4). Нередко можно видеть распад и фрагментацию ПО. На их месте образуются разрозненные клеточные скопления эндокриноцитов в виде тяжей, групп и отдельных клеток.

У молодых животных выявлена обильная иннервация ПЖ, представленная тремя нервными сплетениями: одно — широкопетлистое, состоящее из нервных стволиков и пучков миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, второе — из тонких пучков аксонов автономных нейронов и микроганглиев, третье — основное концевое, состоящее из безмиелиновых волокон с варикозными расширениями и синапсами типа *en passant*. С помощью реакции на PGP 9.5 в ПЖ у крыс иногда обнаруживаются мелкие парасимпатические ганглии. Их нейроны имеют многоугольную

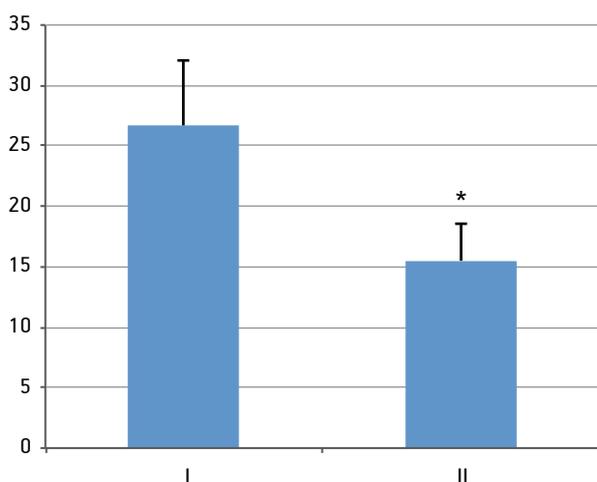


Рис. 2. Количество островков в поджелудочной железе у крыс разного возраста.

По оси абсцисс: I — у молодых крыс; II — у старых крыс; по оси ординат — количество островков на площади 10,4 мм². Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; звездочка — различия между показателями у крыс разного возраста значимы при  $P < 0,05$

форму. Все клетки дают иммунопозитивную реакцию на PGP 9.5. Особенно интенсивно при этом окрашиваются в черный цвет отростки нейронов, которые в составе общего сплетения участвуют в иннервации тканей долек экзокринной части ПЖ и ПО. Внутри ПО ни в одном из исследованных нами случаев нейроны не удалось обнаружить. У старых крыс, в отличие от молодых, в составе пучков нервных волокон выявляются лишь отдельные небольшие группы нейронов (рис. 5).

Наиболее крупные пучки PGP 9.5-позитивных волокон располагаются вблизи крупных магистральных артериальных и венозных сосудов (см. рис. 2, а). Отходящие от этих нервных стволиков тончайшие пучки нервных волокон, разветвляясь, образуют сплетения, иннервирующие гладкие миоциты в стенке сосудов различного диаметра (см. рис. 1, а; 5, а). Внутри долек ПЖ они встречаются вокруг артериол, венул, выводных протоков и многочисленных ацинусов.

При реакции на СФ у молодых крыс, наряду с избирательной окраской эндокриноцитов ПО, во всех отделах ПЖ выявляется терминальное нервное сплетение, которое представлено СФ-позитивными претерминальными и терминальными аксонами с варикозными расширениями. Они образуют густую сеть, которая вплотную прилежит к гладким миоцитам стенки крупных и мелких артерий, артериол, вен, венул (см. рис. 1, а). СФ-позитивные терминалы встречаются вокруг выводных протоков, но их расположение менее плотное, чем в артериях и венах.

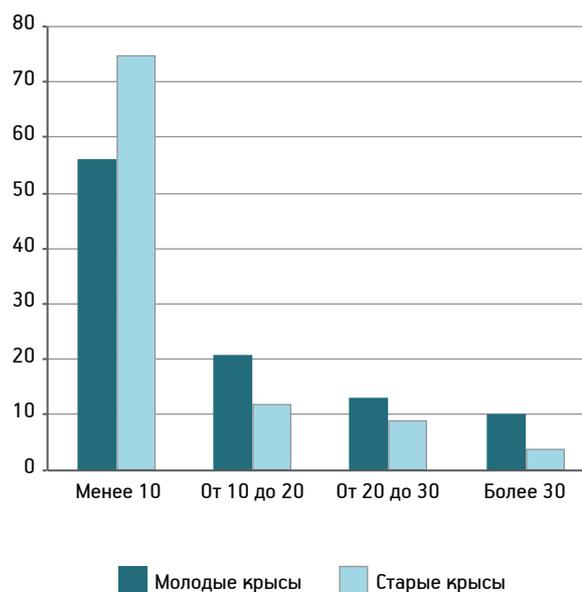


Рис. 3. Гистограмма распределения панкреатических островков (ПО) по размерам площади их сечения у молодых и старых крыс.

По оси абсцисс — площадь сечения ПО (μm² × 100); по оси ординат — доля ПО в каждой группе (%)

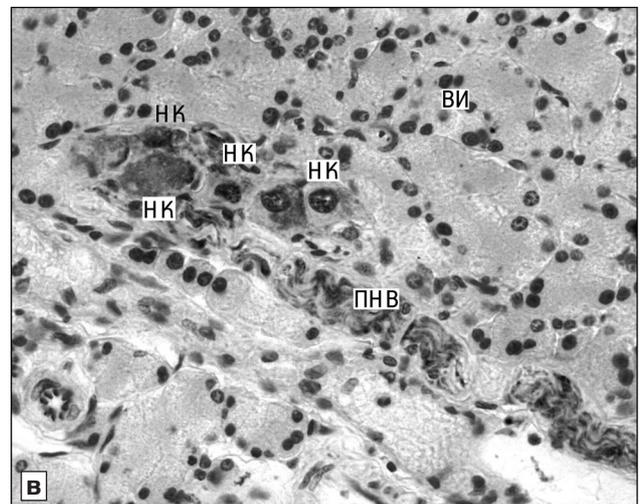
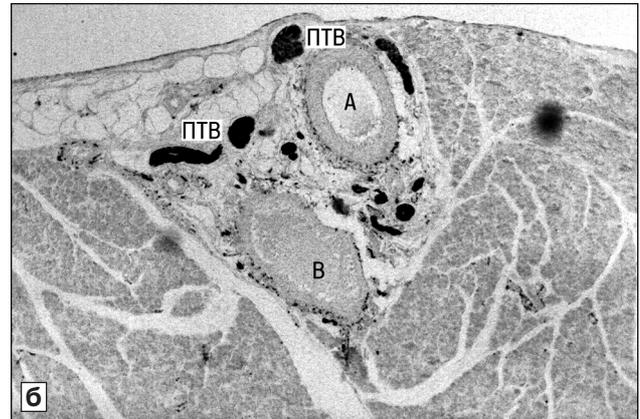
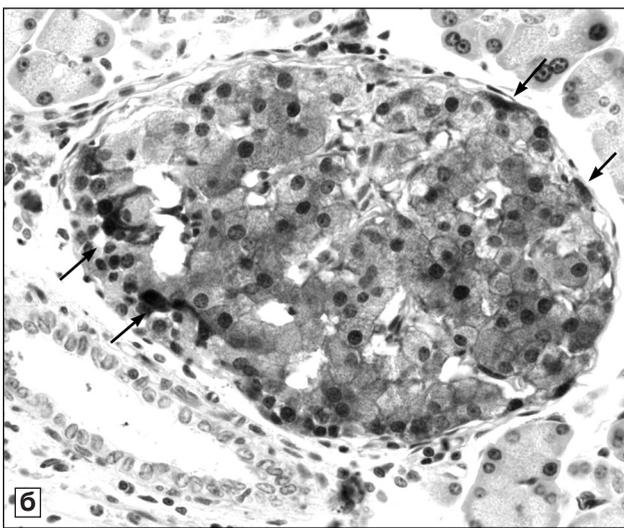
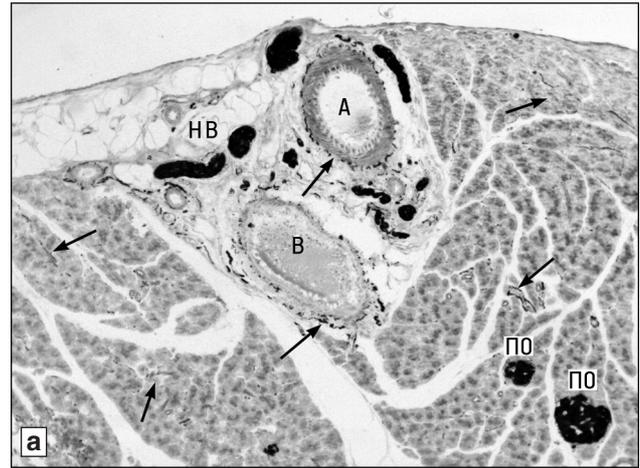
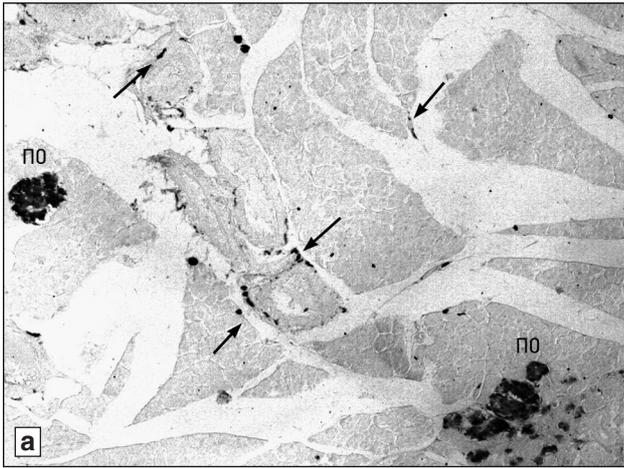


Рис. 4. Поджелудочная железа старой крысы.

а — атрофия и деструкция некоторых панкреатических островков (ПО); редко встречающиеся нервные сплетения вокруг стенок сосудов, выводных протоков и ацинусов (стрелки); б — крупный ПО с вакуолизированными эндокриноцитами, расширенными капиллярами и резко уменьшенным количеством периферически расположенных «темных клеток» (стрелки). Иммуногистохимическая реакция на PGP 9.5. Ув.: а — 100; б — 400

Сравнительный морфологический анализ показал, что у старых крыс отмечаются следующие изменения нервного аппарата. Уменьшается количество интрамуральных ганглиев. В нервных стволах наблюдается разрежение нервных волокон и увеличение количества нейролеммоцитов, отсутствуют миелиновые волокна. Наблюдается уменьшение или полное отсутствие СФ-позитивных терминалей вокруг кровеносных сосудов и выводных протоков. Это может приводить к ухудшению микроциркуляции крови в дольках ПЖ и ПО, и к нарушению функции выводных протоков. С возрастом наблюдается денервация как эндокринной, так и экзокринной частей ПЖ. У старых крыс в дольках между ацинусами и ПО, вокруг многих артериальных сосудов микроциркуляторного

Рис. 5. Нервные и эндокринные структуры поджелудочной железы у старых крыс.

а, б — панкреатические островки; НВ — PGP 9.5-позитивные нервные волокна; ПТВ — пучки тирозингидроксилазопозитивных волокон; терминальные нервные сплетения вокруг крупных сосудов (стрелки); в — микроганглии и пучок нервных волокон (ПНВ). НК — нервная клетка; ВИ — воспалительный инфильтрат. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. а, б — последовательные серийные срезы. Иммуногистохимическая реакция: а — на PGP 9.5; б — на тирозингидроксилазу; в — на PGP 9.5 с докраской толуидиновым синим. Ув.: а, б — 100; в — 400

русла почти полностью отсутствуют характерные для ПЖ молодых крыс СФ-позитивные терминали, уменьшается и количество RGR 9.5-позитивных аксонов (см. рис. 4, а).

С помощью реакции на ТГ в ПЖ выявлены пучки постганглионарных симпатических волокон, которые состоят из многочисленных ТГ-позитивных аксонов (см. рис. 5, б). По ходу следования пучки симпатических волокон истончаются, ветвятся и образуют на границе адвентиции и средней оболочки сосуда концевые сплетения из ТГ-позитивных варикозных аксонов. Наибольшая плотность их расположения отмечена в области дихотомического ветвления междольковых и внутридольковых артерий среднего и малого диаметра, в то время как артериолы, приносящие кровь в экзокринную часть ПЖ и к ПО, окружены слабо выраженной сеточкой истончающихся ТГ-позитивных варикозных аксонов. Отдельные терминальные веточки прослеживаются вплоть до периферически расположенных эндокриноцитов ПО. Внутри самих ПО между эндокриноцитами и капиллярами ТГ-позитивные терминали отсутствуют. Симпатические нейроны в ПЖ нами не обнаружены. Это свидетельствует о том, что ТГ-позитивные аксоны терминального сплетения, выявленного вокруг артериальных сосудов, принадлежат постганглионарным симпатическим нейронам, находящимся вне ПЖ.

Сравнительный анализ иммуногистохимической реакции выявления ТГ у молодых и старых крыс показал резкое уменьшение ТГ-позитивных эфферентных симпатических терминалей вокруг артериальных сосудов и полное отсутствие их в ПО и вокруг выводных протоков у старых крыс.

**Обсуждение полученных данных.** Согласно нашим предыдущим исследованиям [7, 8] и данным других исследователей [4, 16]. СФ и RGR 9.5 являются маркерами, обладающими высокой селективностью выявления эндокриноцитов ПО. Они позволили исследовать топографию и плотность расположения ПО во всех отделах ПЖ у молодых и старых крыс. При сравнении ПЖ у этих групп животных оказалось, что число наиболее крупных ПО с возрастом снижается. Эти данные, полученные на ПЖ у крыс, отличаются от таковых у человека [6]. Авторы показали, что у человека с возрастом и при заболевании сахарным диабетом количество ПО увеличивается. Однако их клеточный состав значительно изменяется: резко уменьшается количество инсулиноцитов по сравнению с глюкагоноцитами [6].

Известно, что в ПО у млекопитающих насчитывается более 5 типов эндокриноцитов. Основные из них — А-клетки — синтезирующие

глюкагон, В- — инсулин, D- — соматостатин, PP- — панкреатический полипептид, E- — грелин [2, 9, 13, 14, 16]. Однако при использовании СФ в качестве маркера все клетки ПО окрашиваются одинаково, с помощью реакции на RGR 9.5 в ПО удается идентифицировать клетки с разной интенсивностью окраски. В клетках, располагающихся по периферии ПО, отмечается более интенсивная реакция на RGR 9.5. В соответствии с данными литературы [13, 14, 16], в центральной части сформированного ПО у молодых крыс преобладают в основном В- и PP-клетки, а по периферии — А- и немногочисленные D-клетки. Описанная цитоархитектоника видоспецифична для крыс [13]. Таким образом, выявленные по периферии ПО интенсивно окрашенные при реакции на RGR 9.5 клетки по своему положению в ПО соответствуют А-клеткам, что отмечено и другими авторами [14, 16].

На фоне нарушения иннервации в некоторых долях ПЖ у старых крыс наблюдались мелкоочаговые воспалительные инфильтраты вблизи сосудов и в области устья главного выводного протока. Важно отметить отсутствие в ПЖ у старых крыс процессов гиперплазии соединительной ткани, которая имеется при хронических панкреатитах у человека [7].

Таким образом, в настоящей работе с помощью иммуногистохимических реакций на СФ, ТГ и RGR 9.5 показано, что с возрастом в ПЖ у крыс наблюдаются существенные изменения в эндокринном отделе и нервном аппарате. У старых крыс выявлены снижение общего количества ПО, главным образом, крупных, а также атрофия и реорганизация их клеточного состава. У них отмечены также денервация тканей ПЖ, уменьшение числа нейронов интрамуральных ганглиев, нервных стволов и пучков, а также СФ- и ТГ-позитивных эфферентных парасимпатических и симпатических терминалей вокруг кровеносных сосудов и выводных протоков. Эти данные свидетельствуют о снижении нейротрофического влияния симпатической и парасимпатической нервной системы на ткани ПЖ при старении.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Барабанов В. М., Гулимова В. И., Фокин Е. И., Савельев С. В. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндокринных клеток и нейральных структур поджелудочной железы у подростка с сахарным диабетом // Клини. и экспер. морфол. 2014. № 2. С. 4–8.
2. Иванова В. Ф., Пузырев А. А. Поджелудочная железа: Руководство по гистологии. СПб.: СпецЛит, 2011. Т. 2. С. 156–167.

3. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Петрова Е.С. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии (руководство). СПб.: СпецЛит, 2014.
4. Коржевский Д.Э., Колос Е.А. Белок PGP 9.5 и его использование в качестве функционального маркера в нейроморфологии // Мед. академ. журн. 2013. Т. 13, № 4. С. 29–35.
5. Кривова Ю.С., Барабанов В.М., Савельев Е.С., Савельев С.В. Нейроэндокринные комплексы в поджелудочной железе нутрии (*Myocastor coypus*) (иммуногистохимическое исследование) // Морфология. 2009. Т. 135, вып. 3. С. 59–62.
6. Прошина А.Е., Кривова Ю.С., Барабанов В.М., Савельев С.В. Иммуногистохимическое исследование наиболее крупных островков поджелудочной железы человека при старении и при сахарном диабете 1 и 2 типов, перспективы для трансплантации // Сахарный диабет. 2013. № 4. С. 38–43.
7. Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Петрова Е.С. и др. Морфологическое исследование поджелудочной железы при хроническом панкреатите с использованием иммуногистохимических маркеров // Мед. академ. журн. 2013. Т. 13, № 2. С. 71–77.
8. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимическое исследование иннервации сердца крысы // Морфология. 2009. Т. 135, вып. 2. С. 33–37.
9. Яглов В.В., Яглова Н.В. Новые концепции биологии диффузной эндокринной системы: итоги и перспективы ее изучения // Вестн. Росс. акад. мед. наук. 2012. № 4. С. 74–81.
10. Ahren B. Autonomic regulation of islet hormone secretion—implications for health and disease // Diabetologia. 2000. Vol. 43, № 4. P. 393–410.
11. Böck P. Fine structure of the neuro-insular complex type II in the cat // Arch. Histol. Jpn. 1986. Vol. 49, № 2. P. 198–197.
12. Dorsche H.H. von, Falkmer S. Ontogeny of human Langerhans islets. A review of some light- and electron-microscopical, immunohistochemical and functional data on fetal development of the endocrine pancreas // J. Evol. Biochem. Physiol. 2000. Vol. 36, № 6. P. 701–718.
13. Heller R.S. The comparative anatomy of islets. In: Islets of Langerhans. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 2015. P. 1–18.
14. In't Veld P., Smeets S. Microscopic anatomy of the human islet of Langerhans. In: Islets of Langerhans. Dordrecht: Springer Science+Business Media, 2015. P. 19–37.
15. Persson-Sjogren S., Zashihin A., Forsgren S. Nerve cells associated with the endocrine pancreas in young mice: an ultrastructural analysis of the neuroinsular complex type I // Histochem. J. 2001. Vol. 33, № 6. P. 373–378.
16. Tomita T. PGP 9.5 immunocytochemical staining for pancreatic endocrine tumors // Islets. 2013. Vol. 5, № 3. P. 122–128.
17. Ushiki T., Watanabe S. Distribution and ultrastructure of the autonomic nerves in the mouse pancreas // Microsc. Res. Tech. 1997. Vol. 37, № 5–6. P. 399–406.
18. Watanabe S., Wakuri H., Mutho K. Histological studies on the endocrine pancreas in the dog // Anat. Histol. Embryol. 1989. Vol. 18, № 2. P. 150–156.

Поступила в редакцию 06.02.2015  
Получена после доработки 02.03.2015

### CHANGES IN THE PANCREATIC ISLETS AND NERVOUS ELEMENTS IN RATS DURING AGING (AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY)

*Ye.I. Chumasov<sup>1,2</sup>, Ye.S. Petrova<sup>1</sup>, D.E. Korzhevskiy<sup>1,3</sup>*

The neural apparatus and the endocrine part of the pancreas was studied in Wistar rats aged 3–4 and 19 months (n=24) using the immunohistochemical reactions for synaptophysin (Syn), tyrosine hydroxylase (TH) and protein gene product 9.5 (PGP 9.5). Since Syn and PGP 9.5 are highly selective in detection of pancreatic islet (PI) endocrinocytes, it was possible to examine their topography and density in all parts of the pancreas. It was found that in rats aged 19 months, the total number of PI was decreased as compared to that in young animals. The study of PI size distribution has shown that the number of large islets decreased with age. Young animals showed rich innervation of the pancreas which was represented by three nerve plexuses: the first was a broadly-looped one, formed by small nerve trunks and bundles of unmyelinated and myelinated nerve fibers, the second consisted of thin bundles of postganglionic axons and microganglia, and the third (main terminal plexus) was formed by axons with varicosities and synapses of “en passant” type. In aged rats, marked degenerative changes in the neurons of intramural ganglia, nerve trunks and bundles were noted together with the reduction or complete absence of Syn- and TH-positive efferent parasympathetic and sympathetic terminals around blood vessels, excretory ducts, denervation of the exocrine and endocrine parts of the pancreas. Innervation disturbances in some lobules were accompanied by small inflammatory perivascular infiltrates.

**Key words:** *pancreas, pancreatic islets, autonomous innervation, aging, immunohistochemistry*

<sup>1</sup> Laboratory of Functional Morphology of Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences North-Western Branch, St. Petersburg; <sup>2</sup> Department of Biology, Ecology, Histology, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine; <sup>3</sup> Department of Fundamental problems of Medicine and Medical Technology, St. Petersburg State University