Фундаментальная медицина

Оригинальное исследование
УДК 612.827:599.323.4-001.8
http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-1-3

ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫС В МОЛОЧНОМ ПЕРИОДЕ: МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Борис Яковлевич Рыжавский[1]✉, Анна Васильевна Ланшакова[2], Юлия Борисовна Малофей[3]

[1-3]Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия
[1]✉19151943@Rambler.ru

Аннотация. Исследовалась кора мозжечка 14- и 30-суточных интактных крыс Вистар. Использовались методы морфометрии, иммуногистохимии, определялась активность сукцинатдегидрогеназы и НАДФН-дегидрогеназы. Установлено, что в течение изученного отрезка молочного периода онтогенеза (между 14-м и 30-м днем) в мозжечке крысы происходят многосторонние изменения. Они включают в себя увеличение толщины коры, исчезновение нейрогенной зоны (наружного зернистого слоя), изменения соотношения толщины молекулярного слоя, слоя клеток Пуркинье, зернистого слоя, активности сукцинатдегидрогеназы и НАДФН-дегидрогеназы. При этом численная плотность клеток Пуркинье у 14- и 30-суточных крыс не имеет достоверных различий. Полученные данные могут учитываться при изучении влияния патологии и экспериментальных воздействий на онтогенетическое развитие мозжечка.

Ключевые слова: кора мозжечка, развитие, иммуногистохимия, морфометрия

Для цитирования: Рыжавский Б.Я. Изменения коры мозжечка крыс в молочном периоде: морфометрический и гистохимический анализ / Б.Я. Рыжавский, А.В. Ланшакова, Ю.Б. Малофей // Дальневосточный медицинский журнал. – 2025. – № 1. – С. 20-25. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-1-3.

CHANGES IN THE CEREBELLAR CORTEX OF RATS IN THE MILK PERIOD: MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMICAL ANALYSIS

Boris Ya. Ryzhavskii[1]✉, Anna V. Lanshakova[2], Yulia B. Malofey[3]

[1-3]Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia
[1]✉19151943@Rambler.ru

Abstract. The cerebellar cortex of 14- and 30-day-old intact Wistar rats was studied. Morphometry and immunohistochemistry methods were used, and the activity of succinate dehydrogenase and NADPH dehydrogenase was determined. It was found that during the studied segment of the lactic period of ontogenesis (between the 14th and 30th days), multilateral changes occur in the rat cerebellum. These include an increase in the thickness of the cortex, the disappearance of the neurogenic zone (outer granular layer), changes in the ratio of the thickness of the molecular layer, the layer of Purkinye cells, the granular layer, the activity of succinate dehydrogenase and NADPH-dehydrogenase. At the same time, the numerical density of Purkinje cells in 14- and 30-day-old rats has no significant differences. The obtained data can be taken into account when studying the influence of pathology and experimental effects on the ontogenetic development of the cerebellum.

Keywords: cerebellar cortex, development, immunohistochemistry, morphometry

For citation: Ryzhavskii B.Ya. Changes in the cerebellar cortex of rats in the milk period: morphometric and histochemical analysis / B.Ya. Ryzhavskii, A.V. Lanshakova, Yu.B. Malofey // Far Eastern medical journal. – 2025. – № 1. – P. 20-25. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-1-3.

Молочный период онтогенеза у крысы, завершающийся в возрасте 30 суток, характеризуется приобретением различных моторных навыков, в том числе, тех, которые могут регистрироваться при тестировании поведения этих животных [1]. В этот же период происходят важные процессы онтогенетического развития мозжечка, являющегося отделом головного мозга (ГМ), связанным с сенсомоторным и вестибулярным контролем, а также участвующим в когнитивных процессах, эмоциях, вегетативной регуляции [2-4]. Развитие мозжечка в неонатальном и молочном периодах отличается особенно высокими темпами. Так, его масса у однодневных крыс составляет 14±2 мг, в у 15-суточных – 130±8 мг, то есть увеличивается более чем в 9 раз, тогда как масса ГМ в этом возрастном интервале возрастает примерно в 4 раза [2, 5]. При этом установлено, что неблагоприятные факторы, действующие в пренатальном и раннем постнатальном периодах онтогенеза, влияют на важные показатели его развития [4, 6]. Одной из особенностей развития этого отдела ГМ является наличие в его коре нейрогенного слоя, существующего у крыс с окончания пренатального периода до 20-22-го дня постнатального онтогенеза. Этот слой формирует наружную поверхность коры мозжечка, располагаясь между ее молекулярным слоем (МС) и мягкой мозговой оболочкой, и обозначается как наружный зернистый слой (НЗС). У человека НЗС закладывается между 9-й и 11-й неделями эмбриогенеза и сохраняется в течение первого года постнатального онтогенеза. Клетки НЗС мигрируют вглубь коры, дифференцируясь в ее нейроны и глиоциты, локализующиеся преимущественно в зернистом слое (ЗС). Проводником нисходящей миграции клеток НЗС могут служить аксоны зрелых клеток-зерен, дендриты клеток Пуркинье (КП) и глиоциты [2-4, 7-9]. В связи с этим, изучение и сопоставление толщины коры, ее НЗС, МС, слоя КП и ЗС позволяет получать ценную объективную информацию о процессах миграции клеток НЗС вглубь коры, темпах ее развития.

Показано, что миграция нейрогенных клеток НЗС сопровождается изменениями их морфологии, исследованы также возрастные особенности строения КП, активность в них сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и НАДН-дегидрогеназы в КП [2]. В то же время, изменения процессов внутримитохондриального и внемитохондриального биологического окисления в НЗС, МС, ЗС коры мозжечка крыс в молочном периоде их онтогенеза не были изучены. Такая особенность мозжечка как четко отграниченная зона нейрогенных клеток, локализованных по всей наружной поверхности его коры, позволяет количественно регистрировать их нейрогенную активность, с одной стороны, и уменьшение с возрастом объема НЗС, а с другой – делает мозжечок удобным объектом для оценки темпов созревания данного отдела мозга.

Условием для изучения этого процесса у экспериментальных животных, подвергшихся действию различных агентов, является наличие данных о ранних этапах развития мозжечка у интактных (контрольных) животных. Эти данные должны отражать динамику наиболее важных объективно регистрируемых показателей, удобных для исследования.

В связи с этим, целью настоящей работы явилось: дать количественную оценку некоторых морфологических изменений, происходящих в течение молочного периода в коре мозжечка крысы. Задачами работы было: изучить происходящие в коре мозжечка в течение молочного периода изменения; 1) соотношения толщины ее разных слоев; 2) локализации и интенсивности нейрогенной активности; 3) численной плотности КП; 4) взаимоотношения миграция клеток НЗС и активности ферментов, участвующих в процессах внутримитохондриального и внемитохондриального окисления.

Материалы и методы

Исследован мозжечок интактных крыс Вистар из пометов средней численности (n=9-12) двух возрастных групп: 14-суточных (4 помета, 49 крысят) и 30-суточных (2 помета, 23 крысенка). Содержание и последующая эвтаназия животных проводились согласно ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Животные обеих возрастных групп содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали в свободном доступе ad libitum. Эвтаназию животных проводили декапитацией. У всех животных определялись масса тела, ГМ, мозжечка вместе с лежащей непосредственно вентральнее его частью ствола ГМ, включавшего продолговатый мозг и мост (Bregma -7,6–12,0) [10]. Отделение мозжечка от ствола мозга не проводили в связи с возможностью возникновения при этом артефактов. Дальнейшей обработке подвергали мозжечок 6 животных, взятых методом случайной выборки, из каждого помета. Мозжечок вместе со стволом фиксировали в забуференном растворе 10 % формалина с цинком. Материал проводился через этанол-изопропаноловую батарею, заливался в парафин. На микротоме Leica (Германия) готовили парафиновые срезы толщиной 5 мкм в области 5Cb [11], которые наносились на предметные стёкла, обработанные поли-L-лизином. Срезы подвергались демаскировке антигенных детерминант кипячением в 0,1М цитратном буфере при pH 6,0 в течение 20 минут. Иммуногистохимическое исследование выполнялось с помощью системы Novolink™ Polymer Detection System

с использованием моноклональных мышиных антител к Ki67 (клон MM1, Leica). Препараты окрашивались также метиленовым синим.

На криостатных срезах (криостат Leica, Германия) толщиной 20 мкм, полученных сразу после декапитации животных, проведено гистохимическое изучение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-Д) в мозжечке 14-суточных (n=6) и 30-суточных (n=6) крыс. Срезы инкубировали в термостате при 37 ºС в течение 30 минут в растворах, приготовленных по [12] с использованием реактивов фирмы Sigma (США).

Препараты, окрашенные метиленовым синим, подвергались обзорному изучению. На цифровых микрофотографиях в программе ImageView измеряли толщину коры, молекулярного слоя (МС) и зернистого слоя (ЗС). На срезах с выявлением экспрессии маркера пролиферативной активности Ki67, на основании измерений в 10 участках в борозде мозжечка, отдельно определялась толщина НЗС. При увеличении микроскопа 15×100 определялось общее число нейронов в 10 000 мкм^2 данной зоны и количество среди них Ki67-позитивных на основании их определения в 10 полях зрения, каждое площадью не менее 1 000 мкм^2 . На препаратах, окрашенных метиленовым синим, подсчитывалось количество клеток Пуркинье на 500 мкм извилины. Все морфометрические измерения проводили в средней части борозд коры мозжечка. Статистическая обработка материала проводилась в программе Statistica 10.0. Определяли среднюю арифметическую и ее ошибку (M±m), медиану, нижний и верхний квартиль (Me, Q1, Q3). Достоверность различий между группами оценивалась с применением критерия Манна-Уитни. Они считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Масса тела 30-суточных крыс была больше, чем у 14-суточных в 3,24 раза, масса ГМ – на 43,8 % (1 444±22 мг против 1 004±13 мг), масса мозжечка и ствола – на 30,6 % (303±10 мг и 232±7,1 мг соответственно). Таким образом, в период между 14 и 30 сутками темпы увеличения массы мозжечка со стволом, как и массы ГМ, были значительно меньшими, чем увеличение массы тела животных. Толщина коры мозжечка 30-суточных крыс превышала ее у 14-суточных на 32 % (таблица). Толщина НЗС у 14-суточных крыс равнялась 33,7±2,9 мкм, у 30-суточных животных этот слой уже не выявлялся (рис. 1, 2).

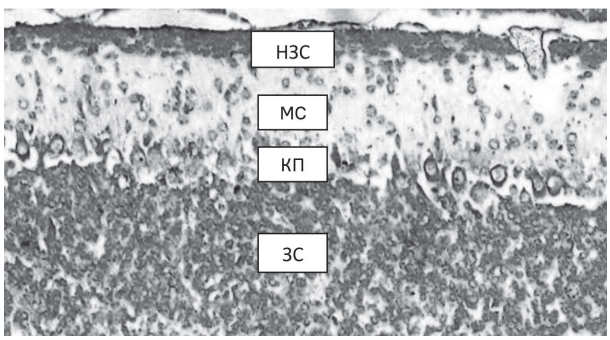


Рис. 1. Кора мозжечка 14-суточной крысы. Окраска метиленовым синим. Увеличение 15×40

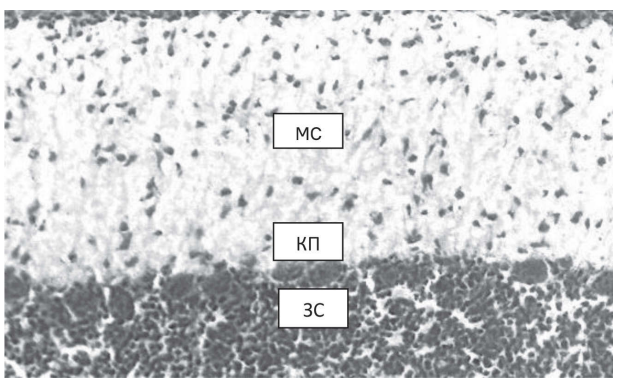


Рис. 2. Кора мозжечка 30-суточной крысы. Окраска метиленовым синим. Увеличение 15×40

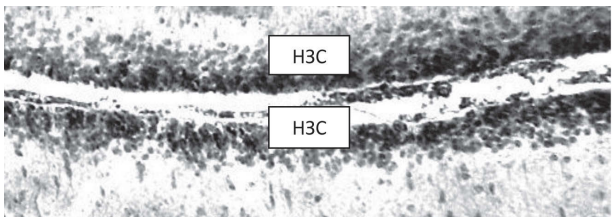
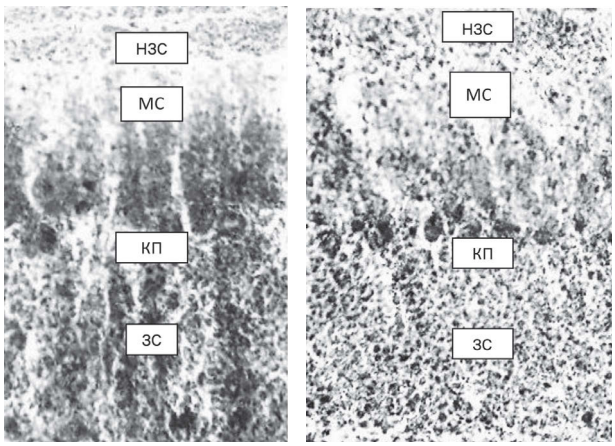
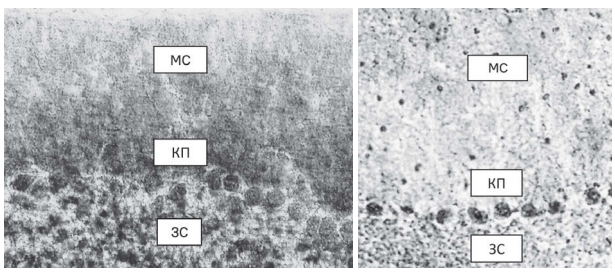


Рис. 3. Кора мозжечка 14-суточной крысы. Реакция на Ki67. Увеличение 15×40



А **Б**

Рис. 4. Кора мозжечка 14-суточной крысы. Реакция на СДГ (А) и на НАДФН-Д (Б). Увеличение 15×40



А **Б**

Рис. 5. Кора мозжечка 30-суточной крысы. Увеличение 15×40. Реакция на СДГ (А) и на НАДФН-Д (Б). Обозначения в рисунках 1-4: НПЗ – наружный зернистый слой, МС – молекулярный слой, КП – слой клеток Пуркинье, ЗС – зернистый слой

Таблица – Морфометрические показатели мозжечка 14-суточных и 30-суточных крыс

	14-суточные		30-суточные	
	M±-м	**Me (Q1, Q3)**	**M±-м**	**Me (Q1, Q3)**
Масса тела, г	18,5±0,5	18,7 (15,7, 20,4)	60±2	62 (55, 64)
Масса ГМ, мг	1 004±13,2	1 009 (975, 1 043)	1 444±22	1 411 (1 394, 1 494)
Масса мозжечка и ствола, мг	232±7,1	235 (226, 242)	303±10	301 (286, 322)
Толщина коры мозжечка, мкм	250±7,1	247 (230, 267)	330±12	339 (303, 355)
Толщина наружного зернистого слоя, мкм	33,7±2,9	33 (27, 36)	-	-
Толщина молекулярного слоя, мкм	76±3,7	73 (67, 81)	151±8	154 (125, 175)
Толщина зернистого слоя, мкм	124±4,2	120 (111, 129)	155±7	158 (141, 167)
Число клеток Пуркинье в 500 мкм борозды	8,7±0,6	8,0 (6,3, 11,2)	**8±0,3**	**7 (7, 8)**
Число клеток в 10 000 мкм² наружного зернистого слоя	246±11,3	240 (224, 265)	-	-
Процент Ki-67-позитивных клеток в наружном зернистом слое	68,6±1,3	68,5 (66,8, 71,9)	-	-
Число Ki-67-позитивных клеток в 100 000 мкм² зернистого слоя	7,7±1,5	6,0 (3,5, 9,0)	137±8,4	140 (122, 157)

Примечание. Все показатели, за исключением выделенных жирным шрифтом, у 14- и 30-суточных крыс статистически достоверно различаются.

Большая, чем у 14-суточных крыс, толщина коры мозжечка у 30-суточных крыс обусловливалась в значительной степени за счет почти двукратного расширения МС, тогда как толщина ЗС возрастала лишь на 25 % (табл.). Таким образом, в данном возрастном интервале произошло исчезновение НЗС, резкое увеличение объема МС и менее значительное – ЗС. При этом численная плотность КП в сравниваемых группах не имела достоверных различий (таблица, рис. 1, 2). Эти возрастные морфометрические различия говорят о значительных изменениях взаимоотношения между разными слоями коры мозжечка. Наиболее заметным различием коры мозжечка у 14- и 30-суточных крыс было отсутствие у последних НЗС, являвшегося нейрогенным, поставлявшим нейроны в ЗС. У 14-суточных крыс Ki67+-клетки в НЗС составляли 68,6±1,3 % (рис. 3, табл.). В ЗС коры мозжечка 14-суточных крыс также встречались Ki67+-клетки. При этом они были малочисленны, их среднее число составляло 7,7±1,5 в 100 000 мкм² среза данного слоя.

У 30-суточных крыс Ki67+-клетки в значительном количестве выявлялись в ЗС (137±8,4 в 100 000 мкм² среза этого слоя), то есть многократно (в 17,8 раза) превышало их число у 14-суточных (таблица). Эти результаты говорят о том, что основным источником увеличения числа клеток в коре мозжечка после исчезновения НЗС становится ЗС. Такое заключение согласуется с данными о том, что мигрирующие из НЗС в ЗС клетки сохраняют нейрогенные потенции, способность к пролиферации и дифференцировке и имеют при этом исключительно высокую численную плотность в слое, являющемся наиболее толстым в коре мозжечка (табл., рис. 1, 2), [2, 3, 7-9]. Можно полагать, что это, наряду с миграцией из НЗС, обусловливает увеличение толщины ЗС коры мозжечка в возрастном интервале от 14- до 30-суточного возраста крысы. С другой стороны, логично предполагать, что, в связи с отсутствием после 30-суточного возраста в коре мозжечка крысы НЗС, именно нейрогенные потенции клеток ЗС в основном определяют увеличение числа клеток в коре мозжечка, а также массы органа в последующие периоды онтогенеза.

МС коры мозжечка состоит в значительной степени из нейропиля – отростков нейронов и глиоцитов, расположенных в МС, а также в глубже лежащих слоях. Это дает основания для предположения о том, что увеличение их «суммарного объема» является основным фактором, обусловившим выявленное двукратное расширение данного слоя в возрастном интервале от 14 до 30 суток. В то же время, определенный вклад в это могли внести мигрирующие через МС клетки НЗС.

Активность исследованных в работе ферментов, СДГ и НАДФН-Д, различалась в разных слоях коры мозжечка. Продукты реакции на СДГ в НЗС коры мозжечка 14-суточных крыс в большинстве клеток не обнаруживались. Лишь в небольшом их числе выявлялись мелкие фиолетовые гранулы диформазана. В МС активность фермента выявлялась в телах клеток, располагавшихся на разных уровнях этого слоя, а также в их отростках, которые маркировались продуктами реакции. Она была более интенсивной во внутренних отделах этого слоя (рис. 4А, 5А), что, по-видимому, обусловливалось большей плотностью расположения здесь клеток и их отростков. КП отличались высокой активностью СДГ в мозжечке крыс как 14-, так и 30-суточных крыс. В ЗС активностью СДГ обладали все его клетки, причем интенсивность реакции в них имела значительные различия. Здесь выявлялось большое число высокоактивных клеток, образовывавших скопления различных размеров. Их цитоплазма окрашивалась в интенсивно фиолетовый цвет (рис. 4А, 5А). По-видимому, эти группы клеток с высокой активностью СДГ соответствуют кластерам, образованным клетками-зернами, клетками Гольджи и глиоцитами ЗС, выявляемым при электронной микроскопии [7]. У 14-суточных крыс в МС и в ЗС определились тяжи из клеток, идущие от НЗС через МС, в ЗС (рис. 4А), отличающиеся низкой активностью СДГ. Можно предположить, что они формируются мигрирующими из НЗС клетками,

отличающимися от клеток МС и ЗС низкой активностью СДГ. В пользу данного предположения говорит тот факт, что у 30-суточных животных, в мозжечке которых НЗС отсутствует, этого не наблюдалось (рис. 5А).

НАДФН-Д, отражающая интенсивность внемитохондриального окисления [13], у 14-суточных крыс в большинстве клеток НЗС была отрицательной, и только в цитоплазме отдельных клеток имелось небольшое количество мелких гранул диформазана. Таким образом, в этом слое активность как СДГ, так и НАДФН-Д, была крайне низкой. Эти результаты могут обусловливаться тем, что клетки НЗС характеризуются очень высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, незначительным объемом цитоплазмы, содержащей преимущественно свободные рибосомы и лишь единичные митохондрии с малым количеством крист [2]. В МС продукты реакции окрашивали тела клеток и их отростки. Более интенсивная реакция наблюдалась во внутренней части этого слоя. Максимальная активность НАДФН-Д как у 14-, так и у 30-суточных крыс, выявлялась в КП. В ЗС большинство клеток имели слабую окраску продуктами реакции, небольшое количество их более интенсивно окрашивалось гранулами диформазана в фиолетовый цвет. При этом такие клетки не образовывали скоплений, выявлявшихся при реакции на СДГ. Реакция на НАДФН-Д в коре мозжечка 30-суточных крыс была подобной имевшейся у 14-суточных животных. В то же время, она отличалась от таковой у 14-суточных, так как на поверхности коры не было НЗС, большинство клеток которого не содержали продуктов реакции (рис. 4Б, 5Б).

Таким образом, активность ферментов, являющихся маркерами внутри- и внемитохондриального окисления (СДГ и НАДФН-Д соответственно), показало, что в коре мозжечка она имела ряд различий. Это может обусловливаться тем, что их роль в функционировании клеток не является одинаковой, поскольку внутримитохондриальное окисление обеспечивает, прежде всего, энергетические потребности клетки, тогда как внемитохондриальное связано с процессами синтеза таких соединений, как нуклеиновые кислоты, белки, липиды [13].

В целом, полученные данные показывают, что в течение молочного периода онтогенеза, когда крысы приобретают способности к активному передвижению, стойкам, свешиваниям, которые регистрируются при тестировании 30-суточных крыс [1], их кора мозжечка претерпевает целый ряд значительных морфологических изменений. Можно полагать, что описанные морфологические изменения коры мозжечка не только совпадают по времени с приобретением различных моторных навыков, но и способствуют их формированию. Уместно отметить, что у человека, как и у крысы, способности ползать, стоять и ходить появляются также в молочном периоде онтогенеза, в течение первого года жизни, то есть одновременно с важными онтогенетическими процессами в развитии коры мозжечка [2-4, 7-9].

В течение молочного периода онтогенеза в мозжечке крысы происходят многосторонние изменения, отражающие развитие его коры. Они включают в себя увеличение ее толщины, исчезновение НЗС, резкое увеличение числа Ki67+-позитивных клеток в ЗС, изменения соотношения толщины МС, слоя КП, ЗС, активности СДГ, НАДН-Д. При этом численная плотность КП у 14- и 30-суточных крыс не имеет достоверных различий. Эти данные могут быть полезными при морфометрическом и гистохимическом изучении влияния патологических процессов и экспериментальных воздействий на онтогенетическое развитие мозжечка.

Список источников

1. Ткач О.В., Демидова О.В, Рыжавский Б.Я. Особенности поведения одномесячных и двухмесячных крыс при акселерации // Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – № 3. – С. 86-89.
   Tkach O.V., Demidova O.V., Ryzhavskii B.Ya. Behavioral peculiarities of one and two month old rats in acceleration // Far Eastern Medical Journal. – 2015. – № 3. – P. 86-89.
2. Зиматкин С.М., Карнюшко О.А. Мозжечок крысы: строение, функции, онтогенез. – Гродно, 2019. – 132 с.
   Zimatkin S.M., Karnyushko O.A. Rat cerebellum: structure, function, ontogenesis. – Grodno, 2019. – 132 p.
3. Калиниченко С.Г., Мотавкин П.А. Кора мозжечка. – М.: Наука, 2005. – 319 с.
   Kalinichenko S.G., Motavkin P.A. Cerebellar Cortex. – M., 2005. – 319 p.
4. Schmahmann J. D.The cerebellum and cognition // Neurosci Lett. – 2019. – № 688. – P. 62-75.
5. Рыжавский Б.Я., Жильников Д.И. Влияние экспериментального сокращения численности пометов у крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза на некоторые показатели развития их головного мозга в 30-дневном возрасте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 10. – С. 509-514.
   Ryzhavskii B.Ya., Zhilnikov D.I. The effect of experimental reduction in the number of litters in rats in the neonatal and lactic periods of ontogenesis on some indicators of their brain development at the age of 30 days // Bulletin. exp. biol. – 2021. – Vol. 172, № 10. – P. 509-514.
6. Рыжавский Б.Я., Васильева Е.В. Соколова Т.В. Морфологические особенности мозжечка потомства самок-крыс, подвергавшихся перед беременностью длительному эмоциональному стрессу. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135, № 2. – С. 235-238.

Ryzhavskii B.Ya., Vasilyeva E.V. Sokolova T.V. Morphological features of the cerebellum of offspring of female rats subjected to prolonged emotional stress before pregnancy // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2003. – Vol. 135, № 2. – P. 235-238.

7. Руководство по гистологии. – СПб.: СпецЛит, 2011. – Т. 1. – 832 с.
   Guide to histology. – SPb.: SpecLit, 2011. – Vol. 1. – 832 p.
8. Komuro H., Yacubava E., Yacubava E., Rakis P. Mode and tempo of tangencial cell migration in the cerebellar external granular layer // Ibid. – 2001. – Vol. 21. – P. 527-540.
9. Lin J.C., Cai L., Cepko C.L. The external granule layer of the developing chick cerebellum generates granule cells and cells of the isthmus and rostral hindbrain // J Neurosci. – 2001. – Vol. 21, № 1. – P. 159-168.
10. Khazipov R., Zaynutdinova D., Ogivetsky E., Mitruchina O., Manent J.-B., Represa A.Atlas the developing rat brain in stereotaxic coordinates // INMED, INSERM U-901 & Aix-Marseille University, Marseille, France Laboratory of Neurobiology. – Kazan: Kazan Federal University, 2013.
11. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Compact 6th Edition, Academic Press, New York. 2005. – 400 p.
12. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. – М., 1982. – 270 с.
    Lojda Z., Gossrau R., Schibler T. Enzyme Histochemistry. – 270 p.
13. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. – М.: Лаборатория знаний, 2022. – 703 с.
    Nelson D., Cox M. Lehninger Principles of Biochemistry, 2022. – 703 p.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.
The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.01.2025.
The article was accepted for publication 12.01.2025.

❑❑❑