



РЕАКЦИЯ CD68-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ СЕЛЕНА И КАНЦЕРОГЕНА

Н.В. Бубнова

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»
428015, Российская Федерация, Чебоксары, Московский пр., 15

Макрофаги являются ключевыми клетками тимуса, которые принимают участие в антигеннезависимой дифференцировке Т-лимфоцитов и их дальнейшей селекции. По уровню макрофагов можно судить об изменении функций исследуемого органа. Селен является незаменимым микроэлементом, который входит в состав множества белков и ферментов, обеспечивающих цитопротективное, антимуtagenное и антиканцерогенное действие. Также он играет значительную роль в функционировании иммунной системы, увеличивая активность естественных киллеров, продукцию интерлейкинов и стимулируя фагоцитоз. Главная цель данного исследования — изучение реакции макрофагов тимуса на фоне приёма селена и введения химического канцерогена. В ходе эксперимента выявлено увеличение уровня CD68-положительных клеток у всех опытных животных, получавших селен, канцероген и при сочетанном влиянии этих факторов, что может быть связано с иммуностимулирующим действием селена.

Ключевые слова: селен, уретан, CD68, макрофаги, тимус

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бубнова Н.В. Реакция CD68-положительных клеток тимуса у крыс при введении селена и канцерогена. *Биомедицина*. 2023;19(2):54–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-54-60>

Поступила 15.03.2023

Принята после доработки 11.05.2023

Опубликована 10.06.2023

RESPONSE OF CD68-POSITIVE THYMIC CELLS IN RATS TO SELENIUM AND CARCINOGEN ADMINISTRATION

Natalia V. Bubnova

I.N. Ulyanov Chuvash State University
428015, Russian Federation, Cheboksary, Moskovsky Ave., 15

Macrophages are the key thymic cells that take part in the antigen-independent differentiation of T-lymphocytes and their further selection. The level of macrophages indicates changes in the functions of the organ under study. As an essential trace element, selenium is part of a variety of proteins and enzymes, which perform cytoprotective, antimutagenic, and anticarcinogenic action. Selenium also plays a significant role in the functioning of the immune system, increasing the activity of natural killers, production of interleukins, and stimulation of phagocytosis. This study was aimed at investigating the response of thymic macrophages to the administration of selenium and a chemical carcinogen. During the experiment, an increase in the level of CD68-positive cells was revealed in all experimental animals receiving selenium and a carcinogen, as well as under their combined action. The observed effects were assumed to be related to the immune-stimulating effect of selenium.

Keywords: selenium, urethane, CD68, macrophages, thymus

Conflict of interest: the author declares no conflict of interest.

For citation: Bubnova N.V. Response of CD68-Positive Thymic Cells in Rats to Selenium and Carcinogen Administration. *Journal Biomed.* 2023;19(2):54–60. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-2-54-60>

Submitted 15.03.2023

Revised 11.05.2023

Published 10.06.2023

Введение

Макрофаги играют одну из главных ролей в регуляции работы иммунной системы, относятся к клеткам врождённого иммунитета и выполняют в организме большое количество функций, что возможно в связи с их гетерогенностью и пластичностью [10]. Это клетки гемопоэтического происхождения, которые определяются практически во всех органах и тканях организма, — клетки Купфера в печени, альвеолярные макрофаги в лёгких, остеокласты в костной ткани и т. д., и составляют 10–15% от общего количества клеток. Несмотря на морфологическое и функциональное разнообразие макрофагов, выполняемые ими функции универсальны [20]. Они участвуют в формировании архитектуры тканей, их ремоделировании и репарации, поддержании тканевого гомеостаза, фагоцитозе апоптотических клеток, иммунном ответе на поступающие в организм чужеродные агенты [11]. Благодаря широкому спектру функций макрофагов их можно рассматривать одним из главных элементов, определяющих роль остальных клеток иммунной системы. Существует понятие о системе мононуклеарных фагоцитов, к которым относятся моноциты, тканевые макрофаги и клетки-предшественники [13].

Уровень макрофагов может изменяться путём дифференцировки циркулирующих моноцитов при участии макрофагального колониестимулирующего (M-CSF) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) [9]. При участии M-CSF моноциты дифференцируются в макрофаги с противовоспалительным фенотипом про-M2, а GM-

CSF приводит к образованию макрофагов с провоспалительным фенотипом про-M1 [7]. Про-M1 и про-M2 становятся макрофагами 1-го и 2-го типа при воздействии многообразных факторов [19]. Макрофаги 1-го типа секретируют интерлейкин-1 β , интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, участвуют в развитии Th1-опосредованных иммунных реакций, обеспечивающих устойчивость к внутриклеточным патогенам и опухолям. Макрофаги 2-го типа экспрессируют маннозные и галактозные рецепторы, принимают участие в развитии Th2-опосредованных иммунных реакций, в ограничении воспаления, иммунорегуляции, ремоделировании тканей и ангиогенезе [17].

Селен относится к эссенциальным микроэлементам и играет одну из главных ролей в широком спектре физиологических процессов, включая и иммунные реакции. Ферменты, содержащие в своём составе селен, обладают антиканцерогенным действием за счёт подавления экспрессии онкогенов, ингибирования активности протеинкиназы C, торможения процессов ангиогенеза, повышения активности противоопухолевых клонов естественных киллеров, стимуляции продукции интерлейкина-1 и интерлейкина-2 [4, 15, 16]. Селен обладает иммуностимулирующим действием, что измеряется широким спектром параметров, включая пролиферацию T-клеток, активность NK-клеток, функции врождённых иммунных клеток [8]. Селен влияет на воспалительную сигнальную способность и антипатогенную активность макрофагов. Селен индуцирует переключение в активации макрофагов с фенотипа M1

на противовоспалительный фенотип M2 [12]. Результаты исследований показали, что селен и селенопротеины регулируют миграцию и процессы фагоцитоза в макрофагах [5].

В настоящее время известно более тысячи веществ, относящихся к химическим канцерогенам. Одним из них является уретан, который классифицирован Международным агентством по изучению рака как «вероятный канцероген для человека» — группа 2A. Уретан, или этиловый эфир карбаминовой кислоты в настоящее время используется в химической промышленности в качестве растворителя для различных органических материалов, при производстве пестицидов и фумигантов, является промежуточным продуктом при производстве органических химикатов, фармацевтических препаратов, необходим при получении аминосмол и при проведении исследований в биохимических лабораториях. В экспериментальных моделях под влиянием уретана у крыс и мышей развивается рак лёгкого [14].

CD68 является членом семейства лизосомальных и эндосомально-ассоциированных мембранных гликопротеинов, который в высокой степени экспрессируется моноцитами человека и тканевыми макрофагами. Белок в основном локализуется в лизосомах и эндосомах, меньшая часть циркулирует на клеточной поверхности. Это интегральный мембранный белок типа I с сильно гликозилированным внеклеточным доменом, который связывается с тканеспецифическими и органоспецифическими лектинами или селектинами. Белок также является членом семейства рецепторов-мусорщиков, стимулирующих фагоцитоз, привлечение и активацию макрофагов [6].

Цель исследования — изучить реакцию макрофагов тимуса у крыс на фоне приёма селена и введения химического канцерогена.

Материалы и методы

Работа выполнена на 32 крысах-самцах Wistar исходной массой 120–150 г, полученных из вивария медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». Возраст животных на начало эксперимента составлял 2 мес. Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова». На протяжении всего эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария, в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, проводились с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2008) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986).

Крысы были разделены на четыре группы. Первая (n=7) — интактная. Вторая (n=8) — животные после приёма селена с питьевой водой в дозировке 20 мкг/кг массы тела в сутки в течение 1 мес. (курсовой приём селена). Третья (n=8) — самцы с однократным внутрибрюшинным введением уретана в дозировке 1,0 г/кг массы тела. Четвёртая (n=9) — животные, которых ежедневно в течение месяца поили водой с селеном в дозировке 20 мкг/кг массы тела с последующим однократным внутрибрюшинным введением уретана в дозе 1,0 г/кг массы тела. Доза селена была выбрана как средняя профилактическая, исходя из имеющихся данных научных ис-

следований [1–3]. Дозировка уретана была выбрана из того расчёта, чтобы она обеспечивала развитие опухоли лёгкого у экспериментальных животных [18, 21].

Выведение животных из эксперимента проводилось через 30 дней после введения канцерогена и окончания приёма селена путём цервикальной дислокации с применением телазола из расчёта 15 мг/кг внутримышечно. Объектом исследования служил тимус. Тимус крыс опытной группы сравнивался с тимусом интактных животных соответствующего возраста. В эксперименте участвовали только те животные, у которых при однократном введении уретана были обнаружены изменения в ткани лёгких, верифицированные классическими общегистологическими методами исследования.

Материалы и методы

Измерение массы тела крыс и массы тимуса проводили с помощью порционных весов SW-02 и электронных лабораторных весов серии «Эва» Ска-120В.

Осуществлялась окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества тимуса.

Использовался иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител к кластеру дифференцировки 68-го типа (CD68) для идентификации макрофагов в структурах тимопоэтического и нетимопоэтического микроокружения долек тимуса («Leica», Великобритания). Материал фиксировали 10%-ным нейтральным формалином в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стёкла и высушивали при температуре 37 °С в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности проводили в цитратном буфере pH=6,0 в автоклаве при температуре 96 °С в течение 20 мин с последующим остыванием в течение 90 мин. Для выявления иммуногистохимических реакций

в работе применялась система визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND. С целью внутреннего контроля реакции использовали неиммунизированную кроличью сыворотку. Результаты реакций оценивали с применением микроскопа МИКРОМЕД 3 ЛЮМ. Положительной реакцией на CD68 считали коричневую окраску цитоплазмы клеток. Площадь иммуногистохимической реакции оценивали методом автоматического выделения и подсчёта площади интересующего цветового спектра (окрашенного DAB) по отношению к площади снимка. Полученные числовые значения переводились в процентное отношение к общей площади снимка.

Электронная микроскопия — исследование ультратонких срезов тимуса толщиной 60–80 нм методом просвечивающей электронной микроскопии проводилось в HRTEM режиме на просвечивающем электронном микроскопе Hitachi HT 7700 Exalens при ускоряющем напряжении 100 кэВ с разрешением 0,144 нм.

Компьютерная морфометрия — измерение площади мозгового и толщины коркового вещества тимуса выполнено с применением лицензионной программы «Микро-Анализ» (Россия).

Статистическую значимость полученных данных определяли по t-критерию Стьюдента. Данные представляли в виде средней арифметической величины (M) и её средней ошибки (m). Корреляционный анализ проводился по непараметрическому критерию Вилкоксона — Манна — Уитни.

Результаты исследований

При патоморфологическом исследовании препаратов лёгких у крыс, получавших в течение 30 дней селен, не обнаружено отличий от лёгких животных интактной группы. Через 30 дней после однократного введения уретана выявлено полнокровие ткани лёгкого, периваскулярное скопление лимфоцитарных клеток. При сочетанном

Таблица 1. Масса крыс и тимуса, площадь мозгового и толщина коркового вещества тимуса в интактной и опытных группах

Table 1. Mass of rats and the thymus, area of the medulla and thickness of the thymus cortex in the intact and experimental groups

Показатель	Интактные	Введение селена	Введение уретана	Сочетанное влияние двух факторов
Масса крысы, г	268,33±8,3	241,3±1,2	181,5±0,5	255,5±11,3
Масса тимуса, мг	109,5±22,04	192,35±9,25*	248,95±16,15*	241,1±33,1*
Площадь мозгового вещества, мкм ² ×10 ³	31413±3731,05	298796,4±26365,79*	199494±51363,12	531751,3±44134,18*
Толщина коркового вещества, мкм	266,7±20,05	253,58±7,65	342,68±61,12	333,183±54,77

Примечание: * — $p < 0,01$ по сравнению с показателями у интактных крыс.

Note: * — $p < 0,01$ compared to intact rats.

воздействию селена и канцерогена наблюдалось выраженное полнокровие лёгких.

При проведении эксперимента не было зафиксировано достоверного увеличения массы крыс по сравнению с интактными животными, но отмечалось достоверное увеличение массы тимуса у крыс во всех опытных группах (табл. 1). Корреляционный анализ показал отрицательную связь между массой тимуса интактных крыс и получавших селен ($r = -0,997$; $p < 0,05$), а также при сочетанном воздействии двух факторов ($r = -0,997$; $p < 0,05$). Положительная корреляция отмечается при однократном введении канцерогена ($r = 0,999$; $p < 0,05$).

У крыс, получавших селен в течение 1 мес., паренхима тимуса отчётливо разделена соединительнотканными септами на дольки округлой или полигональной формы с выраженной границей между корковым и мозговым веществом, отмечается расширение и полнокровие сосудов мозгового вещества. Анализ проведённой морфометрии выявил достоверное увеличение площади мозгового вещества по сравнению с интактной группой в 9,5 раза. Отмечается достоверная отрицательная корреляционная связь между толщиной коркового вещества тимуса интактных животных и получавших курсовой приём селена ($r = -0,994$; $p < 0,05$).

На фоне введения уретана происходят изменения в цитоархитектонике тимуса. Появляются дольки пальцевидной или прямоугольной формы. Достоверных измене-

ний толщины коркового и площади мозгового вещества не обнаружено.

При сочетанном воздействии двух факторов строение тимуса отличается от тимуса интактных крыс значительным увеличением площади мозгового вещества в 17 раз.

При иммуногистохимическом исследовании тимуса выявлено изменение экспрессии клеток CD68 во всех опытных группах по сравнению с интактными животными. В тимусе крыс, получавших селен, увеличивается количество CD68⁺-клеток в корковом веществе в 5,5 раза, в мозговом веществе — в 2 раза. Определяется достоверная отрицательная корреляционная связь между корковым веществом тимуса интактных животных и получавших курсовой приём селена ($r = -0,972$; $p < 0,05$).

Экспрессия CD68⁺-макрофагов в корковом и мозговом веществе превышает значения интактных животных в 2,5 раза у крыс с однократным внутрибрюшинным введением уретана. Высчитывается достоверная отрицательная корреляционная связь между площадью мозгового вещества тимуса интактных животных и получивших внутрибрюшинно уретан ($r = -0,994$; $p < 0,05$).

У животных с сочетанным воздействием селена и канцерогена количество CD68⁺-положительных макрофагов увеличивается в 1,6 раза в корковом и мозговом веществе по сравнению с крысами контрольной группы. При этом отмечается достоверная отрицательная корреляционная связь между

корковым ($r=0,826$; $p<0,05$) и мозговым ($r=0,933$; $p<0,05$) веществом тимуса интактных животных и получавших селен и уретан.

По результатам электронной микроскопии тимус крыс, получавших селен, по своей организации не отличается от тимуса животных интактной группы.

Ультрамикроскопическое исследование тимуса у крыс с введением уретана показало увеличение количества митохондрий со светлым матриксом до 8–10 шт. и большое количество электронно-прозрачных включений — 10–12 шт. в одной клетке. Визуализируются апоптотические тельца. У всех клеток отмечается нечёткий контур плазмолеммы.

При сочетанном воздействии селена и канцерогена определяется 6–8 митохондрий в одной клетке. Присутствует 7–8 электронно-прозрачных включений.

Обсуждение результатов

Таким образом, нами выявлено, что на фоне приёма селена происходят достоверные изменения размеров коркового и мозгового вещества тимуса, а также количества CD68⁺-клеток, что, возможно, связано с изменениями микроциркуляции в исследуемом органе, приводящими к усилению миграции макрофагов, и это обеспечивает иммуностимулирующее действие данного микроэлемента. Уретан относится к химическим канцерогенам, и при его попадании в организм увеличение уровня макрофагов связано с их фагоцитирующей и антиген-презентирующей функцией. Изменение уровня CD68-положительных макрофагов при сочетанном воздействии селена и уретана может быть обусловлено усилением апоптоза повреждённых клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Абрамцова А.В., Саградян Г.В., Пигунова Л.А., Репс В.Ф., Товбушенко Т.М. Механизмы действия модифицированной наночастицами селена минеральной воды «Красноармейский новый». *Курортная медицина*. 2016;1:26–34. [Abramtsova A.V., Sagradyan G.V., Piguнова L.A., Reps V.F., Tovbushenko T.M. Mekhanizmy deystviya modifitsirovannoy nanochastitsami selena mineral'noy vody «Krasnoarmeyskiy novyy»] [Mechanisms of action of mineral water modified with selenium nanoparticles “Krasnoarmeyskiy novyy”]. *Kurortnaya meditsina [Resort Medicine]*. 2016;1:26–34. (In Russian)].
2. Какурский Л.В., Бескровнова Н.Н., Кудрин А.Н., Коган А.Х., Николов С.М. Морфологические показатели влияние селена и витамина Е на течение экспериментального инфаркта миокарда. *Кардиология*. 1976;16(11):31–37. [Kakurskii L.V., Beskrovnova N.N., Kudrin A.N., Kogan A.Kh., Nikolov S.M. Morfologicheskie pokazateli vliyaniya selena i vitamina E na techenie eksperimental'nogo infarkta miokarda [Morphological parameters the effect of selenium and vitamin E on the course of experimental myocardial infarction]. *Kardiologiya [Cardiology]*. 1976;16(11):31–37. (In Russian)].
3. Кокхан С.Т., Фефелова Е.В., Максименя М.В., Терешков П.П., Кривошеева Е.М., Патенюк А.В., Шантанова Л.Н. Восстановление антиоксидантной и иммунной защиты организма селеносодержащими средствами при экспериментальном гипоселенозе. *Фундаментальные исследования*. 2012;11(4):837–841. [Kokhan S.T., Fefelova E.V., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P., Krivosheeva E.M., Pateyuk A.V., Shantanova L.N. Vosstanovlenie i antioksidantnye selen-soderzhashchie sredstva immunooy zashchity pri eksperimental'nom giposelenoze [Restoration and antioxidant selenium-containing immune defences in experimental hyposelenosis]. *Fundamental'nye issledovaniya [Fundamental research]*. 2012;11(4):837–841. (In Russian)].
4. Обухова О.А., Курмуков И.А. Селен в онкологии. *Онкогинекология*. 2019;1(29):66–72. [Obukhova O.A., Kurmuков I.A. Selen v onkologii [Selenium in oncology]. *Onkoginekologiya [Gynecologic Oncology]*. 2019;1(29):66–72. (In Russian)]. DOI: 10.52313/22278710_2019_1_66.
5. Carlson B.A., Yoo M.H., Shrimali R.K., Irons R., Gladyshev V.N., Hatfield D.L., Park J.M. Role of selenium-containing proteins in T-cell and macrophage function. *Proc. Nutr. Soc.* 2010;69(3):300–310. DOI: 10.1017/S002966511000176X.
6. Chistiakov D.A., Killingsworth M.C., Myasoedova V.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. CD68/macrosialin: Not just a histochemical marker. *Lab. Invest.* 2017;97(1):4–13. DOI: 10.1038/labinvest.2016.116.
7. Fleetwood A.J., Lawrence T., Hamilton J.A., Cook A.D. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage

- phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: Implications for CSF blockade in inflammation. *J. Immunol.* 2007;178(8):5245–5252. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.5245.
8. Huang Z., Rose A.H., Hoffmann P.R. The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 2012;16(7):705–743. DOI: 10.1089/ars.2011.4145.
 9. Jaguin M., Houlbert N., Fardel O., Lecreur V. Polarization profiles of human M-CSF-generated macrophages and comparison of M1-markers in classically activated macrophages from GM-CSF and M-CSF origin. *Cell. Immunol.* 2013;281(1):51–61. DOI: 10.1016/j.cellimm.2013.01.010.
 10. Locati M., Curtale G., Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annu. Rev. Pathol.* 2020;15:123–147. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718.
 11. Mosser D.M., Hamidzadeh K., Goncalves R. Macrophages and the maintenance of homeostasis. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18(3):579–587. DOI: 10.1038/s41423-020-00541-3.
 12. Nelson S.M., Lei X., Prabhu K.S. Selenium levels affect the IL-4-induced expression of alternative activation markers in murine macrophages. *J. Nutr.* 2011;141(9):1754–1761. DOI: 10.3945/jn.111.141176.
 13. Qiao D.R., Shan G.Y., Wang S., Cheng J.Y., Yan W.Q., Li H.J. The mononuclear phagocyte system in hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2022;28(45):6345–6355. DOI: 10.3748/wjg.v28.i45.6345.
 14. Radwan E., Ali M., Faied S.M.A., Omar H.M., Mohamed W.S., Abd-Elghaffar S.K., Sayed A.A. Novel therapeutic regimens for urethane-induced early lung cancer in rats: Combined cisplatin nanoparticles with vitamin-D3. *IUBMB Life.* 2021;73(2):362–374. DOI: 10.1002/iub.2432.
 15. Rataan A.O., Geary S.M., Zakharia Y., et al. Potential role of selenium in the treatment of cancer and viral infections. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(4):2215–2218. DOI: 10.3390/ijms23042215.
 16. Seo Y.R., Kelley M.R., Smith M.L. Selenomethionine regulation of p53 by a ref1-dependent redox mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002;99(22):14548–14553. DOI: 10.1073/pnas.212319799.
 17. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: In vivo veritas. *J. Clin. Invest.* 2012;122(3):787–795. DOI: 10.1172/JCI59643.
 18. Tannenbaum A., Vesselinovitch S.D., Maltoni C., Mitchell D.S. Multipotential carcinogenicity of urethane in the Sprague-Dawley rat. *Cancer Res.* 1962;22:1362–1371.
 19. Tarique A.A., Logan J., Thomas E., Holt P.G., Sly P.D., Fantino E. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2015;53(5):676–688. DOI: 10.1165/rcmb.2015-0012OC.
 20. Woo Y.D., Jeong D., Chung D.H. Development and functions of alveolar macrophages. *Mol. Cells.* 2021;44(5):292–300. DOI: 10.14348/molcells.2021.0058.
 21. Zheng J., Guo X., Nakamura Y., Zhou X., Yamaguchi R., Zhang J., Ishigaki Y., Uramoto H., Yamada S. Overexpression of PRDX4 modulates tumor microenvironment and promotes urethane-induced lung tumorigenesis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:8262730. DOI: 10.1155/2020/8262730.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ | INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Бубнова Наталья Владимировна, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»;
e-mail: natalia210485@yandex.ru

Natalia V. Bubnova, I.N. Ulyanov Chuvash State University;
e-mail: natalia210485@yandex.ru