

ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ЭНДОКРИННЫХ СТРУКТУР СЕМЕННИКОВ АМФИБИЙ, РЕПТИЛИЙ И МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, НАСЕЛЯЮЩИХ АНТРОПОГЕННО ТРАНСФОРМИРОВАННЫЕ ЭКОСИСТЕМЫ ЮЖНОГО УРАЛА

Н. Н. Шевлюк, М. Ф. Рыскулов*, Е. В. Блинова, А. С. Максимова*,
А. Г. Суербаева*, И. Г. Плотникова
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Оренбург, Россия
*ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный педагогический университет»,
г. Оренбург, Россия

Цель настоящего исследования – провести анализ морфофункциональных особенностей клеток Лейдига семенников половозрелых особей амфибий, рептилий и мелких млекопитающих, населяющих антропогенно трансформированные экосистемы.

Материал и методы. С использованием сравнительного морфофункционального и эколого-морфологического подходов проведена оценка морфофункционального состояния эндокринных структур гонад исследованных классов животных, испытывающих негативное влияние дестабилизирующих факторов.

Результаты. Показаны принципы и закономерности морфогенетических преобразований в популяциях клеток Лейдига, представлен диапазон изменчивости их морфологических параметров.

Ключевые слова: антропогенно трансформированные экосистемы, амфибии, рептилии, мелкие млекопитающие, семенники, клетки Лейдига.

© N. N. Shevlyuk, M. F. Ryskulov*, E. V. Blinova, A. S. Maksimova*, A. G. Syerbaeva*, I. G. Plotnikova, 2017
Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia
*Orenburg State Pedagogical University, Orenburg, Russia
Histophysiology of Endocrine Structures in Testes of Amphibians, Reptiles and Small Mammals Inhabiting Anthropogenically Transformed Ecosystems of the South Urals

The aim of this study is to analyze the morphofunctional features of Leydig cells of testicles of sexually mature specimens of amphibians, reptiles and small mammals inhabiting anthropogenically transformed ecosystems.

Material and methods. Using comparative morphological and eco-morphological approaches to the assessment of morpho-functional state of the endocrine structures of the gonads studied classes of animals affected by destabilizing factors.

Results. The principles and regularities of morphogenetic transformations in populations of Leydig cells, the range of variability of their morphological parameters have been shown.

Key words: anthropogenically transformed ecosystems, amphibians, reptilians, small mammals, testes, Leydig cells.

Введение

Широкий спектр продуцируемых клетками Лейдига гормонов определяет многие процессы и явления в организме позвоночных. Но наиболее важным является значение эндокриноцитов семенников в регуляции размножения позвоночных (сперматогенез в извитых семенных канальцах, функциональная активность аксессуарных желез мужской половой системы, половое поведение и др.) [8, 9, 12].

В то же время следует признать, что до сих пор дискуссионными и крайне противоречивыми являются сведения, касающиеся адаптивных и реактивных изменений клеток Лейдига в условиях воздействия на организм различных экстремальных факторов [1–4, 6, 13–15].

Цель настоящего исследования – анализ морфофункциональных особенностей клеток Лейдига семенников половозрелых особей амфибий, рептилий и мелких млекопитающих, населяющих антропогенно трансформированные экосистемы.

Материал и методы исследования

В основу работы положены собственные данные исследований, проводившихся в весенне-летние сезоны 2010–2017 гг.

Объектом исследования служили семенники амфибий, рептилий и мелких млекопитающих из популяций, обитающих на урбанизированных территориях и промышленных зонах.

Изучали семенники представителей амфибий – озерной лягушки *Rana ridibunda*

P. (133 особи), зеленой жабы *Bufo viridis* L. (21 особь), серой жабы *Bufo bufo* L. (14 особей); рептилий – прыткой ящерицы *Lacerta agilis* L. (41 особь); млекопитающих – домовый мыши *Mus musculus* L. (46 особей), малой лесной мыши *Apodemus uralensis* P. (42 особи), обыкновенной полевки *Microtus arvalis* P. (40 особей), полевой мыши *Apodemus agrarius* P. (36 особей), обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. (31 особь), степной пеструшки *Lagurus lagurus* P. (27 особей). Отлов амфибий производили в пойме реки Урал в черте г. Оренбурга и в окрестностях г. Медногорска. Рептилий и мелких млекопитающих отлавливали на урбанизированных территориях г. Оренбурга, а также в экосистемах, испытывающих постоянное техногенное воздействие комплекса неблагоприятных факторов предприятия цветной металлургии – Медногорского медно-серного комбината (г. Медногорск).

Контролем служили органы мужской репродуктивной системы животных тех же видов, отловленных в те же календарные периоды в экологически благоприятных регионах степной зоны Южного Урала (Ташлинский, Саракташский и Александровский районы).

Работа с животными проводилась в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986, ETS № 123).

Для светооптических исследований материал фиксировали в 12% водном растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином, перйодатом калия и реактивом Шиффа по Мак Манусу [5]. На гистологических препаратах проводили подсчет интерстициальных эндокриноцитов на условной единице площади (на площади квадрата со стороной 35 мкм). Морфометрические критерии, характеризующие функциональную активность интерстициальных эндокриноцитов, включают определение их количества, размеров клетки и ядра [7–10]. Измеряли линейные и объемные показатели ядер интерстициальных эндокриноцитов. В зависимости от формы клеток и их ядер объемы клеток Лейдига вычисляли по формуле эллипса или шара [7]. На той же условной единице площади срезов подсчитывали количество клеток Лейдига, проявляющих морфологические эквиваленты высокой функциональной активности. Высоко функциональными считали эндокриноциты средних и крупных размеров с развитой цитоплазмой, имеющие светлые крупные ядра с выраженным эухроматином в ядре.

С использованием иммуноцитохимических методов на срезах семенников определя-

ли экспрессию белков Ki67, P53, bcl2, caspase-2.

Морфометрию эндокринного компартамента семенников осуществляли с применением стандартных окулярных сеток Г. Г. Автандилова и С. Б. Стефанова, а также окулярного винтового микрометра МОВ-1-15×У4,2. Полученные цифровые данные обрабатывали на компьютере с использованием программы Statistica 6.0 ("StatSoft, Inc."), с использованием критериев оценки достоверности результатов по Стьюденту, с учетом вариальности первичных измеряемых объектов и индивидуальной изменчивости.

Результаты и их обсуждение

Анализ гистологических препаратов семенников изученных видов животных выявил наличие выраженных закономерно проявляющихся неспецифических деструктивных изменений, затрагивающих сперматогенный эпителий и клеточные элементы интерстиция органа, что свидетельствует о нарушении репродуктивных возможностей половозрелых особей позвоночных, обитающих в антропогенно нарушенных территориях.

Следует подчеркнуть, что глубина и степень морфологических нарушений в эндокринном компартменте была более выражена у позвоночных, отловленных в непосредственной близости от предприятия цветной металлургии (на расстоянии до 3 км) и в рекреационных зонах – парках и скверах. В более удаленных от металлургического предприятия популяциях позвоночных сдвиги в морфофункциональной характеристике мужских гонад, возникающие под действием негативных факторов среды обитания, находились в пределах адаптивных возможностей животных. Менее существенные различия в сравнении с животными экологически благополучных экосистем наблюдались в микроструктуре гонад мелких млекопитающих, отловленных в лесополосах, на окраине города, дачных участках и в частном жилом секторе.

В интерстициальной ткани всех исследованных групп животных городских и промышленных территорий наиболее выражены следующие нарушения: снижение численности интерстициальных эндокриноцитов, прежде всего за счет их гибели, деструкция клеток Лейдига, а также уменьшение их среднего размера ядер по сравнению с контрольными животными (табл.).

В норме топографическое распределение клеток Лейдига у интактных животных таково, что наиболее крупные клетки Лейдига чаще всего концентрируются около канальцев с признаками деструкции. А любые стрессорные воздействия приводят к тому, что средние размеры клеток в популяции эндокриноцитов

Таблица.

Морфометрическая характеристика интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) в семенниках половозрелых особей озерной лягушки, прыткой ящерицы и малой лесной мыши, обитающих в экосистемах в зоне влияния Медногорского медно-серного комбината и фоновых локалитетах за 2010–2017 гг.

Вид	Место отлова	n	Количество клеток Лейдига (на единицу площади)	Объем ядер клеток Лейдига (мкм ³)
Озерная лягушка	До 3 км от предприятия	6	8.7±0.7*	66.1±3.0*
	45 км от предприятия	7	11.1±0.8*	81.3±2.5*
	Контроль	9	12.63±1.92	89.4±3.5
Прыткая ящерица	До 3 км от предприятия	6	8.7±0.5*	28.1±1.9*
	45 км от предприятия	6	10.8±0.62	30.2±2.7*
	Контроль	10	11.02±0.51	33.3±3.5
Малая лесная мышь	До 3 км от предприятия	6	3.48±0.31*	52.11±1.81*
	45 км от предприятия	5	4.80±0.71	56.0±2.1*
	Контроль	5	5.17±0.60	69.0±3.2

Примечание: различия с контролем значимы при $P < 0.05$.

снижаются и у канальцев с деструктивными изменениями оказываются менее крупные клетки. То есть органотопическое соотношение не изменяется, а реализуется на более низком уровне диапазона морфологической изменчивости.

Этот факт свидетельствует о значительной роли продуктов секреции клеток Лейдига в регуляции деструктивных изменений в сперматогенном эпителии.

Связь гетероморфизма в популяции эндокриноцитов с различием в гистофизиологии сперматогенного эпителия рельефнее всего проявляется у животных без выраженной сезонности в репродукции, то есть возможность для проявления паракринных взаимоотношений в семенниках лучше реализуется у животных, находящихся в оптимальных для размножения условиях в любое время года.

Характерной особенностью адаптивных и реактивных изменений эндокриноцитов семенников животных, обитающих на антропогенно нарушенных экосистемах является усиление гетероморфности в популяции клеток Лейдига. Происходит возрастание доли отросчатых и веретеновидных клеток, которым присущи уменьшенные в сравнении с контролем объемы цитоплазмы и ядра. Более выраженным становится ядерный полиморфизм. Выявлено, что у исследованных групп животных в семенниках преобладающими являются эндокриноциты, имеющие средние размеры ядер, на их долю приходится почти 90%. Клетки Лейдига животных из экологически благополучных регионов имеют более крупные размеры цитоплазмы и ядер.

Подобные изменения, с одной стороны, являются отражением напряженного (на грани истощения) функционирования мужских гонад позвоночных в исследованных антропо-

генно измененных ландшафтах, с другой стороны, свидетельствуют о значительной устойчивости эндокринных структур семенников к действию негативных факторов среды обитания, что согласуется с данными литературы [9–11].

Одним из наиболее чувствительных маркеров, определяющих уровень апоптотической активности как соматических, так и половых клеток является антиапоптотический белок bcl2. Обнаружено, что количество клеток с экспрессией белка bcl2 у животных из техногенных зон уступает таковым значениям в контроле. Однако, по нашему мнению, апоптозу вряд ли принадлежит ключевая роль в этих процессах, так как подсчет интерстициальных эндокриноцитов, демонстрирующих проявления апоптоза, показывает, что доля гибнущих путем апоптоза клеток Лейдига является несущественной.

Очевидно, ведущее значение в изменении численности популяции эндокриноцитов может принадлежать процессам их гибели, либо морфофункциональной перестройки. В условиях угасания репродуктивной активности на фоне существенного изменения численности клеток Лейдига возрастает доля клеток фибробластического дифферона в интерстиции. Вероятно, в связи с изменением секреторной функции часть эндокриноцитов семенников приобретает морфологические характеристики, которые сближают их с клетками фибробластического дифферона, что не позволяет на светооптическом уровне идентифицировать такие клетки, которые, относятся к популяции интерстициальных эндокриноцитов.

Анализ морфофункциональной характеристики семенников показал, что среди исследованных животных антропогенно преоб-

разованных экосистем количественно преобладали животные с активизацией эндокринной функции семенников.

Клетки Лейдига с активизацией секреторной функции наблюдались по всему объему органа (вне зависимости от состояния сперматогенного эпителия в канальцах, около которых локализованы клетки Лейдига), что может свидетельствовать о нарушении паракринных взаимоотношений эндокринных и герминативных структур. Однако в семенниках животных, отловленных парках и скверах, было отмечено более выраженное разрастание соединительной ткани в интерстиции органа на фоне угнетения секреторной функции клеток Лейдига.

Изменения со стороны интерстициальных эндокриноцитов были разнонаправленными у разных видов. У одних исследованных животных (малой лесной мыши, полевой мыши) объемы клеток Лейдига и их ядер практически не отличались от животных, обитающих на фоновых территориях, у других объемы клеток Лейдига были снижены по сравнению с контролем. Это указывает на высокие адаптивные возможности эндокринных структур семенников этих видов.

Гистологическая картина гонад исследованных животных показала, что эндокринные структуры амфибий и рептилий менее устойчивы к воздействию комплекса техногенных факторов в сравнении с изученными млекопитающими.

Выводы

Полученные нами результаты свидетельствуют о предельно напряженном характере функционирования эндокриноцитов семенников (на грани исчерпания их адаптивных возможностей), приводящим к дезинтеграции секреторного процесса в ряде клеток.

В то же время, мы наблюдаем и некоторые проявления адаптивных возможностей интерстициальных эндокриноцитов семенников (например – увеличение доли клеток Лейдига среднего размера, усиление проявлений гетероморфии среди эндокриноцитов).

Результаты исследования также показали, что эндокринные структуры семенников, по сравнению с генеративными, являются более устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды.

Список литературы

1. Боков Д. А., Шевлюк Н. Н. Характеристика сперматогенеза у мышей СВАхС57BL6 при комбинированном действии хрома и бензола. Проблемы репродукции. 2014; 2: 7–11.
2. Боков Д. А., Шевлюк Н. Н., Абдильданова А. М. Формирование изменчивости цитометрических параметров в различных кластерах интерстициальных эндокриноцитов семенников мышей СВАхС57BL6 при хром-бензолной интоксикации в эксперименте. Бюллетень экспе-

- риментальной биологии и медицины. 2014; 157: 53–56.
3. Брюхин Г. В., Сизоненко М. Л., Романов А. С. Характеристика инкреторной функции семенников потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза. Вопросы морфологии XXI века. 2010; 2: 70–75.
4. Волкова О. В., Тарабрин С. Б., Сухоруков В. С., Шамшад Д. А. Локальные взаимоотношения между соматическими элементами мужской гонады. Морфология. 1992; 103 (9-10): 7–20.
5. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.: Изд-во иностранной литературы; 1962. 962.
6. Слесарева Е. В., Арав В. И., Хайруллин Р. М., Слесарев С. М. Суточная структура морфофункциональной организации эндокринной ткани семенников при нарушении эпифизарной регуляции. Морфологические ведомости. 2009; 3-4: 96–99.
7. Ухов Ю. И., Астраханцев А. Ф. Морфологические методы в оценке функционального состояния семенников. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983; 84 (3): 66–71.
8. Шевлюк Н. Н. Сравнительная морфофункциональная характеристика эндокриноцитов семенников позвоночных (онтогенез, сезонные изменения, действие экстремальных факторов): автореф. дис. докт. биол. наук. Москва; 1997. 40.
9. Шевлюк Н. Н., Бекмухамбетов Е. Ж., Мамырбаев А. А., и др. Биология размножения, стратегия выживания и механизмы адаптации позвоночных антропогенных ландшафтов. Оренбург: Издательство ОрГМУ; 2016. 268.
10. Шевлюк Н. Н., Бекмухамбетов Е. Ж., Умбетов Т. Ж., и др. Закономерности адаптивной перестройки репродуктивной системы позвоночных в экосистемах, испытывающих влияние предприятий цветной металлургии. Морфология. 2017; 151 (3): 117.
11. Шевлюк Н. Н., Рыскулов М. Ф., Суербаева А. Г., Блинова Е. В. Структурно-функциональные преобразования органов репродуктивной системы мелких млекопитающих в зоне влияния Медногорского медно-серного комбината. Альманах молодой науки. 2017; 2: 39–43.
12. Шевлюк Н. Н., Стадников А. А. Клетки Лейдига семенников позвоночных (онтогенез, ультраструктура, цитофизиология, факторы и механизмы регуляции). Оренбург: ОрГМА; 2010. 484.
13. Chamindrani Mendis-Handgama S. M. L., Siril Ariyaratne H. B. Differentiation of the Adult Leydig Cell Population in the Postnatal Testis. Biology of Reproduction. 2001; 65: 660–671.
14. Gribbins K. M., Gist D. H., Congdon J. D. Cytological evaluation of spermatogenesis and organization of the germinal epithelium in the male slider turtle, *Trachemys scripta*. J. Morphol. 2003; 255 (3): 337–346.
15. Haider S. G., Passia D. Ultrastructurelle enzym-histochemische und endokrinologische Studien an humanen Leydigzellen; Versuch einer Klassifizierung. Anat. Anz. 1989; 168 (1): 62.

References

1. Bokov D. A., Shevlyuk N. N. Charakteristika spermatogeneza u myshey СВАхС57BL6 pri kom-

- binirovannom deystvii khroma i benzola [Spermatogenesis parameters in mice CBAx57BL6 under combined action of chromium and benzen]. Problemy reproduktivnoy. 2014; 2: 7–11 (in Russian).
2. Bokov D. A., Shevlyuk N. N., Abdil'danova A. M. Formirovaniye izmenchivosti tsitometricheskikh parametrov v razlichnykh klasterakh interstitial'nykh endokrinotsitov semennikov myshey CBAx57BL6 pri khrom-benzol'noy intoksikatsii v eksperimente [Variability of cytometric parameters in various clusters of interstitial endocrine cells of testicles in CBAx57BL6 mice during experimental chrome-benzene intoxication]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2014; 157 (1): 53–56 (in Russian).
 3. Bryukhin G. V., Sizonenko M. L., Romanov A. S. Kharakteristika inkretornoy funktsii semennikov potomstva samok krysa s eksperimental'nykh khronicheskimi porazheniem pecheni razlichnogo gena [Characteristics of the incremental function of the testes of the offspring of female rats with experimental chronic liver damage of various origins]. Voprosy morfologii XXI veka. 2010; 2: 70–75 (in Russian).
 4. Volkova O. V., Tarabrin S. B., Sukhorukov V. S., Shamshad D. A. Lokal'nye vzaimootnosheniya mezhdu somaticheskimi elementami muzhskoy gonady [Local relationships between physical elements of the male gonads]. Morfologiya. 1992; 103 (9-10): 7–20 (in Russian).
 5. Piers A. Gistokhimiya teoreticheskaya i prikladnaya [Histochemistry theoretical and applied]. Moscow: Inostrannaya literatura; 1962. 962 (in Russian).
 6. Slesareva E. V., Arav V. I., Khayrullin R. M., Slesarev S. M. Sutochnaya struktura morfofunktsional'noy organizatsii endokrinnoy tkani semennikov pri narushenii epifizarnoy regulatsii [Daily structure of morphofunctional testicle endocrine tissue organization at transgression pineal glands regulation]. Morphological Newsletter. 2009; 3-4: 96–99 (in Russian).
 7. Ukhov Yu.I., Astrakhantsev A. F. Morfologicheskie metody v otsenke funktsional'nogo sostoyaniya semennikov [Morphological methods in assessing the functional state of the testes]. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii. 1983; 84 (3): 66–71 (in Russian).
 8. Shevlyuk N. N. Sravnitel'naya morfofunktsional'naya kharakteristika endokrinotsitov semennikov pozvonochnykh (ontogenez, sezonnye izmeneniya, deystvie ekstremal'nykh faktorov): avtoref. dis. dokt. biol. Nauk [Comparative morphofunctional characteristic of the vertebrates endocrinocytes of testicles (ontogeny, seasonal changes, the effect of extreme factors): Doct. med. sci. diss. abs.]. Moscow; 1997. 40 (in Russian).
 9. Shevlyuk N. N., Bekmukhambetov E. Zh., Mamyrbayev A. A., et al. Biologiya razmnzheniya, strategiya vyzhivaniya i mekhanizmy adaptatsii pozvonochnykh antropogennykh landshaftov [Biology of reproduction, survival strategy and adaptation mechanisms of vertebrate anthropogenic landscapes]. Orenburg: Publishing house of OrgMU; 2016. 268 (in Russian).
 10. Shevlyuk N. N., Bekmukhambetov E. Zh., Umbetov T. Zh., et al. Zakonomernosti adaptivnykh perestroek reproduktivnoy sistemy pozvonochnykh v ekosistemakh, ispytyvayushchikh vliyaniye predpriyatiy tsvetnoy metallurgii [Regularities of adaptive remodelling of the vertebrate reproductive system in ecosystems, influenced by the enterprises of non ferrous metallurgy]. Morfologiya. 2017; 151 (3): 117 (in Russian).
 11. Shevlyuk N. N., Ryskulov M. F., Suerbaeva A. G., Blinova E. V. Strukturno-funktsional'nye preobrazovaniya organov reproduktivnoy sistemy melkikh mlekoпитayushchikh v zone vliyaniya Mednogorskogo medno-sernogo kombinata [Structural and functional transformations of organs of the reproductive system of small mammals in the zone of influence of the Mednogorsk copper-sulfur plant]. Al'manakh molodoy nauki. 2017; 2: 39–43 (in Russian).
 12. Shevlyuk N. N., Stadnikov A. A. Kletki Leydiga semennikov pozvonochnykh (ontogenez, ul'trastruktura, tsitofiziologiya, faktory i mekhanizmy regulatsii) [Leydig cells of testes of vertebrates (ontogeny, ultrastructure, cytophysiology, factors and mechanisms of regulation)]. Orenburg: OrGMA; 2010. 484 (in Russian).
 13. Chamindrani Mendis-Handgama S. M. L., Siril Ariyaratne H. B. Differentiation of the Adult Leydig Cell Population in the Postnatal Testis. Biology of Reproduction. 2001; 65: 660–671.
 14. Gribbins K. M., Gist D. H., Congdon J. D. Cytological evaluation of spermatogenesis and organization of the germinal epithelium in the male slider turtle, Trachemys scripta. J. Morphol. 2003; 255 (3): 337–346.
 15. Haider S. G., Passia D. Ultrastructurelle enzymhistochemische und endokrinologische Studien an humanen Leydigzellen; Versuch einer Klassifizierung. Anat. Anz. 1989; 168 (1): 62.

Сведения об авторах

Шевлюк Николай Николаевич – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: k_histology@orgma.ru.

Рыскулов Марат Фирдатович – канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры зоологии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный педагогический университет». 460014, г. Оренбург, ул. Советская, 19. E-mail: mar-star89@yandex.ru.

Блинова Елена Владиславовна – канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: k_histology@orgma.ru.

Максимова Анастасия Сергеевна – аспирант кафедры зоологии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный педагогический университет». 460014, г. Оренбург, ул. Советская, 19. E-mail: prilepchik@mail.ru.

Суербаева Айнагуль Губайдулловна – аспирант кафедры зоологии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный педагогический университет». 460014, г. Оренбург, ул. Советская, 19. E-mail: Aina_09@yandex.ru

Плотникова Ирина Геннадьевна – ассистент кафедры биофизики и математики ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: irinaplotnikova1@inbox.ru

Поступила в редакцию 2.08.2017 г.