

УДК 615.451.16:582.929]-085:615.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>

Протекторный эффект экстракта *Prunella grandiflora* L. относительно токсического воздействия этопозиды на примере *Drosophila melanogaster*

Антосюк О.Н.¹, Болотник Е.В.², Постовалова А.С.¹

¹ Уральский федеральный университет (УрФУ) им. первого Президента России Б.Н. Ельцина Россия, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

² Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук (УрО РАН) Россия, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а

РЕЗЮМЕ

Цель. Выявление протекторных свойств экстракта *Prunella grandiflora* L. (черноголовка крупноцветковая) при совместном его использовании с противораковым препаратом «Этопозид» на экспериментальной линии животных *Drosophila melanogaster*.

Материалы и методы. В работе использовали 10%-й экстракт травы черноголовки, препарат «Этопозид» 20 мг/мл в растворе для инъекций (ОАО «Верофарм», Россия) в концентрации 800 мкг/кг питательной среды. Генотоксический эффект определяли с использованием метода SMART (Somatic Mutation And Recombination Test).

Результаты. При совместном применении этопозиды и 10%-го экстракта *P. grandiflora* показано снижение летальности у особей *D. melanogaster* до 15% и увеличение средней индивидуальной плодовитости в 2 раза в сравнении с использованием данного цитостатика без экстракта.

Заключение. Установлено наличие антигенотоксического эффекта, который проявляется в отсутствии хромосомных aberrаций, что позволяет рассмотреть возможность использования экстракта *P. grandiflora* в качестве компонента в диете пациентов, проходящих определенное терапевтическое лечение.

Ключевые слова: лекарственные растения, антигенотоксический эффект, *Drosophila melanogaster*, протекторные свойства, этопозид, SMART.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Российской Федерации (постановление № 211, контракт № 02.А03.21.0006).

Для цитирования: Антосюк О.Н., Болотник Е.В., Постовалова А.С. Протекторный эффект экстракта *Prunella grandiflora* L. относительно токсического воздействия этопозиды на примере *Drosophila melanogaster*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 6–11. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>.

Protective effect of the *Prunella grandiflora* L. extract in relation to the toxic effect of etoposide through the example of *Drosophila melanogaster*

Antosyuk O.N.¹, Bolotnik E.V.², Postovalova A.S.¹

¹ Ural Federal University (UrFU) named after the first President of Russia B.N. Yeltsin
19, Mira Str., Yekaterinburg, 620002, Russian Federation

² Botanical Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences
202a, 8 March Str., Yekaterinburg, 620144, Russian Federation

ABSTRACT

The data on the protective properties of the *Prunella grandiflora* L. extract were obtained when used together with the anticancer drug etoposide on the experimental strain of *Drosophila melanogaster*. The combined use of etoposide and 10% extract of *P. grandiflora* decreased mortality in *D. melanogaster* individuals to 15% and doubled the average individual fertility compared to the use of this cytostatic drug without the extract. Using the SMART method, the presence of the antigenotoxic effect was identified, which manifests itself through the absence of chromosomal aberrations.

Key words: medicinal plants, antigenotoxic effect, *Drosophila melanogaster*, protective properties, etoposide, SMART.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. This work was supported by the Government of the Russian Federation (Decree No. 211, contract No. 02.A03.21.0006).

For citation: Antosyuk O.N., Bolotnik E.V., Postovalova A.S. Protective effect of the *Prunella grandiflora* L. extract in relation to the toxic effect of etoposide through the example of *Drosophila melanogaster*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 6–11. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-6-11>.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с высокой распространенностью онкологических заболеваний в человеческой популяции поиск лекарственных препаратов, протекторов и адаптогенов является крайне важным направлением исследований. Используемые в химиотерапии цитостатики характеризуются наличием как основного (противоопухолевого) эффекта, так и множеством побочных, в частности общим токсическим и генотоксическим. Для снижения побочного действия исследуются различные протекторы, большую часть из которых составляют экстракты лекарственных растений, обладающих комплексом разнообразных компонентов [1].

При использовании экстракта лекарственных растений в качестве протектора важно установить, не обладает ли он сам по себе каким-либо токсическим и генотоксическим эффектом. В связи с этим необходимо проанализировать экстракт как отдельно, так и совместно с цитостатиком. Использование экстрактов лекарственных растений распространено повсе-

местно, особенно много подобного рода исследований проводится в Индии, Китае и других странах, где широко распространена народная медицина [2–4]. Актуальным является поиск протекторов на основе растительного сырья, произрастающего в России.

В этом аспекте значительный интерес представляют растения рода *Prunella* L., произрастающие в Уральском регионе. Род *Prunella* принадлежит семейству Lamiaceae Juss., представители которого обладают высокой биологической активностью и интересны с точки зрения получения ценного лекарственного сырья. *Prunella vulgaris* L. (черноголовка обыкновенная) является официальным лекарственным растением в медицине Китая [5]. Экстракт из надземной части *P. vulgaris* обладает антиоксидантными [6, 7], противовоспалительными, антибактериальными, антифунгальными [8, 9] и противоопухолевыми свойствами [10].

В подтверждение этих данных в 2019 г. появилась статья о том, что экстракт корня *P. vulgaris* ингибирует *in vitro* и *in vivo* канцерогенез в клетках карциномы молочной железы человека [11]. В России

до сих пор *P. vulgaris* не является фармакопейным видом, однако в последние годы упоминается в литературе как растение – продуцент важнейших классов биологически активных веществ (БАВ) [12–14] и исследуется как компонент в фармацевтических препаратах [15]. Лекарственные свойства *Prunella grandiflora* (L.) Scholler (черноголовки крупноцветковой) мало изучены, ее экстракт проявляет антифунгальные, антибактериальные свойства и обладает биологической активностью при гипоксии [16, 17]. По нашим предположениям, экстракт *P. grandiflora* может проявить протекторные свойства к лекарственным противоопухолевым препаратам, так как по содержанию основных групп БАВ были выявлены некоторые особенности.

В частности, установлено, что в *P. grandiflora* среди фенолкарбоновых кислот доминирует розмариновая кислота (70–89%). Выявлено, что вне зависимости от года сбора растения содержание розмариновой кислоты выше у *P. grandiflora*, чем у *P. vulgaris* [12, 18]. Розмариновая кислота обладает противоопухолевой, антипролиферативной [19] и антициклооксигеназной активностью [20], может защищать от онкологических заболеваний, лучевой болезни [21]. Учитывая вышеизложенное, целью нашего исследования было выявление протекторных свойств *P. grandiflora* по отношению к токсическому и генотоксическому воздействию этопозида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Траву *P. grandiflora* собрали в фазу цветения в Красноуфимском районе Свердловской области к северу от дер. Марийский Усть-Маш, гора Мокрая (N 56°09'22.0'', E 058°32'19.6'') в 2018 г. Сушку растений осуществляли в хорошо проветриваемых помещениях. Высушенное сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями 1 мм. Навеску травы черноголовки крупноцветковой в количестве 0,8 г экстрагировали в 10 мл 70%-го спирта в течение 24 ч. Далее 2,4 мл 10%-го экстракта добавляли в питательную среду массой 17,6 мл. Этиловый спирт (70%-й) добавляли к питательной среде в пропорции 10 : 90 соответственно, или 2,4 мл на 17,6 мл питательной среды.

В работе использовали препарат «Этопозид» 20 мг/мл в растворе для инъекций (Веро-фарм Эбеве, Россия) в концентрации 800 мкг/кг питательной среды. Выбранная нами концентрация цитостатика демонстрирует выраженный генотоксический эффект [22]. Для оценки жизнеспособности и общей летальности использовали лабораторную линию Oregon R. Для скрещивания были отобраны особи, выращенные в стандартных лабораторных условиях

при температуре 24 °С, при умеренной влажности и освещенности, на питательной среде Альдерстона (250 мл дистиллированной воды, 25 г глюкозы, 25 г дрожжей, 2 г агара). Для исследования использовали особей *D. melanogaster* не позднее 6-го ч вылета из пупария (виргинские самки). Для учета плодовитости 25 индивидуальных пар помещали в 25 пробирок с полый крышкой, заполненной агаровой средой и смазанной дрожжами.

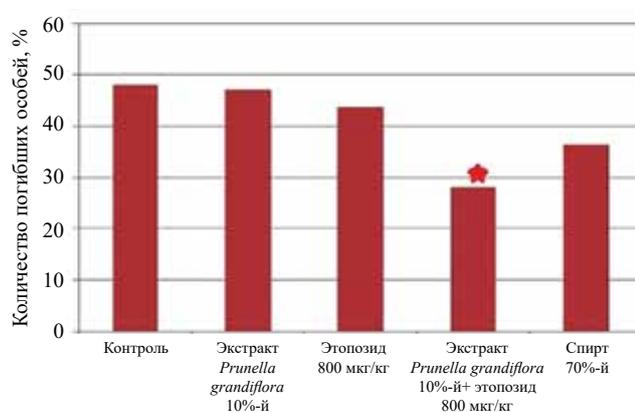
Ежедневно с поверхности крышек производили сбор отложенных яиц (F_1) при помощи препаровальной иглы и помещали на чашки Петри с агаровым слоем для дальнейшего развития. От общего количества отложенных яиц за день высчитывали долю (%) неразвившихся на раннем этапе (менее 6 ч, белый цвет), на позднем этапе развития (более 6 ч, бурый цвет). Для определения процента смертности личинок родительского поколения *D. melanogaster*, их выращивали на питательных средах с экстрактом, этопозидом или совместно экстрактом и этопозидом в количестве по 300 особей. Общую летальность определяли по количеству особей, погибших на стадии личинки и на стадии куколки. На стадии личинки определяли разницу между количеством посаженных на питательную среду особей и количеством пупариев, которая свидетельствует о гибели неокуклившихся личинок. Летальность на стадии куколки определяли по наличию в выборке заполненных пупариев, что свидетельствует о гибели особей внутри пупария.

Генотоксический эффект определяли с использованием метода SMART (Somatic Mutation And Recombination Test). Для этого самок из мутантной линии yellow (желтый окрас тела, ген yellow локализован на X-хромосоме) скрещивали с самцами из мутантной линии white singed 3 (белые глаза и опаленные щетинки на теле, гены также локализованы на X-хромосоме), поместив их на тестируемую среду на 72 ч. После 72 ч родительское поколение мух удаляли, а из отложенных ими яиц развивалось гибридное потомство (F_1). Для анализа использовали гибридных самок дикого фенотипа (коричнево-серое тело, прямые щетинки, красные глаза), так как самцы обладали фенотипом yellow, унаследованным от материнских особей согласно явлению «крисс-кросс». У самок производили осмотр щетинок на теле и отмечали количество нетипичных для нормального фенотипа щетинок по цвету и форме, а именно желтые и (или) опаленные. Область, содержащую подобную щетинку, регистрировали в таблице как одиночное пятно у (yellow) или sn (singed) либо двойное у sn. Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft Inc., Statistica, v. 8.0, Serial Number: JPZ803I371720ARCN-6. При сравнении и анализе

выборок использовали критерий Манна – Уитни и критерий χ^2 с поправкой Йетса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения общего токсического эффекта использовали два показателя: определение общей летальности особей *D. melanogaster* и их среднюю индивидуальную плодовитость. Оценку показателей выживаемости и смертности проводили в трех группах особей *D. melanogaster*, получавших экстракт и этопозид по отдельности или совместно в течение всего периода развития. По истечению 10 сут выживаемость особей *D. melanogaster* в группе, выращенной на питательной среде, содержащей 10%-й экстракт *Prunella grandiflora* и этопозид, составила 72% (рис. 1).

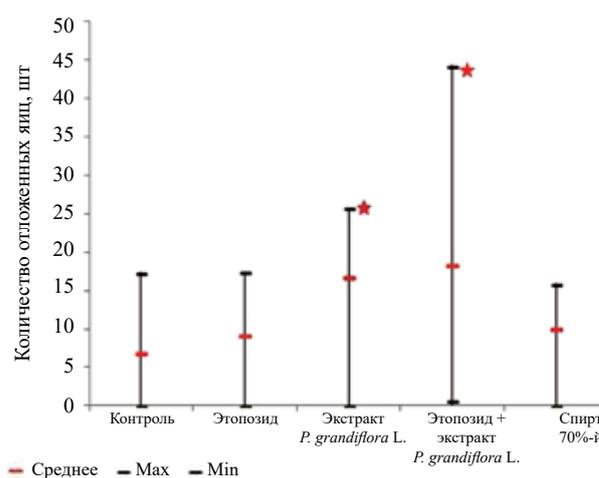


Экспериментальные группы особей *Drosophila melanogaster*

Рис. 1. Общая летальность особей линии Oregon R *Drosophila melanogaster*, выращенных на питательной среде с добавлением различных компонентов: * значения, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в контрольной группе при $p < 0,001$ (критерий χ^2)

Из рис. 1 видно, что совместное применение этопозид и экстракта снижает летальность на 20% по отношению к контрольной группе и на 15% к группе с использованием данного цитостатика без экстракта. При добавлении одного экстракта *P. grandiflora* к питательной среде не обнаружено снижения смертности по отношению к контролю. При воздействии 70%-м спиртом летальность составила 36,33%. Таким образом, данная концентрация спирта не обладает выраженным общим токсическим эффектом и пригодна в качестве основы экстракта. Соответственно, анализ общей летальности особей, выращенных на питательной среде, содержащей 10%-й экстракт *Prunella grandiflora* L. и этопозид, показал наличие положительного эффекта в отношении их выживаемости.

Оценивали параметры жизнеспособности линии Oregon R: среднюю индивидуальную плодовитость (СИП), частоту ранних и поздних леталей потомства на эмбриональной стадии (до 6-го ч развития – РЭЛ, после – ПЭЛ). На рис. 2 продемонстрировано улучшение по показателям плодовитости при совместном применении этопозид и экстракта и при использовании экстракта самого по себе.



Экспериментальные группы особей *Drosophila melanogaster*

Рис. 2. Средняя индивидуальная плодовитость особей линии Oregon R *Drosophila melanogaster*, выращенных на питательной среде с добавлением различных тестируемых веществ: * значения, достоверно отличающиеся от соответствующих показателей в контрольной группе при $p < 0,05$ (критерий Манна – Уитни)

Зарегистрировано снижение общего токсического эффекта при воздействии экстракта, что показано в изменении показателя СИП: при воздействии этопозидом СИП составляет 9,03; а при совместном воздействии цитостатика и экстракта – до 18,27. Кроме того, сравнительная характеристика СИП у изучаемых мух показала, что максимальное количество отложенных яиц зарегистрировано при применении экстракта с этопозидом. Соответственно, экстракт нивелирует токсическое действие в отношении фертильного потенциала. Однако, несмотря на столь выраженный эффект, он не распространяется на показатель летальности потомства на эмбриональной стадии. Возможно, это связано с кратковременностью положительного воздействия экстракта для изменения показателя летальности F_1 .

Надо отметить, что результаты СИП, полученные при использовании 70%-го спирта, который является основой экстракта, сравнимы с показателями при применении этопозид.

Также был проведен анализ генотоксического эффекта этопозид с использованием линий

SMART. Выявлен рост частоты мутаций и рекомбинаций с увеличением концентрации в питательной среде (таблица). Из данных таблицы видно, что сам по себе экстракт не изменяет частоту мутаций и

рекомбинаций, т.е. не демонстрирует генотоксических свойств, тогда как этопозид обладает явным генотоксическим эффектом, что соответствует другим исследованиям [23].

Таблица

Учет соматического мозаицизма на *Drosophila melanogaster* при использовании маркеров yellow (y) и singed (sn)

Тестируемая группа	Выборка	Число особей с мутантными пятнами					χ^2	p
		y	sn	y sn	другие мутантные фенотипы	доля выборки, %		
Контроль	573	1	2	0	0	0,52	–	–
Этопозид, 400 мкг/кг	499	0	11	0	0	2,2	4,615	0,032
Этопозид, 800 мкг/кг	196	0	0	0	9	4,59	13,199	<0,001
Экстракт <i>P. grandiflora</i> , 10%-й	176	0	2	0	0	1,14	0,118	0,731
Спирт, 70%-й	227	0	7	0	0	3,08	6,68	0,010
Экстракт <i>P. grandiflora</i> , 10%-й, + этопозид, 800 мкг/кг	230	1	5	1	0	3,04	6,55	<0,011

Генотоксичность 70%-го спирта проявляется в виде одиночных пятен singed, в связи с чем допускаем, что его действие специфично повреждает хромосому в прицентромерочном районе. Отсутствие самок с пятнами yellow позволяет предположить, что активному воздействию спирта удаленный участок хромосомы не подвергался. При этом значение χ^2 в опытной группе «этопозид 400 мкг/кг» по сравнению с контролем близко к критическому.

Кроме того, при использовании этопозид в концентрации 800 мкг/кг питательной среды зарегистрировали большое количество нехарактерных мутантных рецессивных фенотипов, проявляющихся благодаря явлению псевдоминирования, что косвенно свидетельствует о воздействии данного цитостатика на частоту хромосомных aberrаций. По данным A.N. Sortibrán с соавт., увеличение хромосомных перестроек действительно имеет место быть [24].

Однако при совместном использовании экстракта и этопозид мы не обнаружили изменение генотоксических свойств этопозид в отношении частоты появления пятен, но зарегистрировали антигенотоксический эффект в отношении частоты хромосомных aberrаций. Соответственно, можно утверждать об избирательности проявления экстракта на генотоксические свойства этопозид. Так как экстракты других лекарственных растений использовались как в больших, так и в малых концентрациях для проявления антигенотоксических свойств [25], то представляется целесообразным проверить данную гипотезу и в отношении используемого нами экстракта *P. grandiflora*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружен положительный эффект 10%-го экстракта *P. grandiflora* в отношении антигенотоксичности, общей летальности и показателей жизнеспособности особей линии Oregon R *D. melanogaster*, подвергшихся воздействию этопозид и экстракта. Это делает целесообразным дальнейшее тестирование данного экстракта. Полученные данные позволяют рассмотреть возможность использования экстракта *P. grandiflora* в качестве компонента в диете пациентов, проходящих определенное терапевтическое лечение.

ЛИТЕРАТУРА

- Burkhart J., Walchli C., Heusser P., Weissenstein U., Baumgartner S., Andres A. *In vitro* investigation into the potential of a mistletoe extract to alleviate adverse effects of cyclophosphamide. *Altern. Ther. Health Med.* 2010; 16 (3): 40–48.
- Liang C., Pan H., Li H., Zhao Y., Feng Y. *In vitro* anticancer activity and cytotoxic screening of phytochemical extracts from selected traditional Chinese medical plants. *J. Buon.* 2017; 22 (2): 543–551.
- Siew Y.Y., Yew H.C., Neo S.Y., Seow S.V., Lew S.M. Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian traditional medicine to treat cancer. *J. Ethnopharmacol.* 2019; 235: 75–87. DOI: 10.1016/j.jep.2018.12.040.
- Daddan J.R., Sreenivasulu B., Umanahesh K., Peddanna K., Rao D.M. *In silico* studies on anti-stress compounds of ethanolic root extract of *Hemidesmus indicus* L. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2020; 21 (6): 502–515. DOI: 10.2174/13892010021666191211152754.
- Chen Y.H., Guo Q.S., Wang C.Y. Textual research on change of medicinal parts and herbal medicine of *Prunella vulgaris*. *J. Chin. Mater. Med.* 2010; 35 (2): 242–246. DOI: 10.4268/cjcm20100228.

6. Feng L., Jia X., Zhu M.-M., Chen Y., Shi F. Antioxidant activities of total phenols of *Prunella vulgaris* L. *in vitro* and in tumor – bearing mice. *Molecules*. 2010; 15 (12): 9145–956. DOI: 10.3390/molecules15129145.
7. Mrudula G., Mallikarjuna Rao P., Jayaveera K.N., Arshad M.D., Rehmann S.A. Antistress and antioxidant effects of *Prunella vulgaris* leaves. *Pharmacologyonline*. 2010; 2: 952–962.
8. Дмитрук С.И. Противовоспалительные свойства, антибактериальная и антифунгальная активности экстракта из надземной части *Prunella vulgaris* L. *Растительные ресурсы*. 2001; 35 (4): 92–97.
9. Дмитрук С.И., Дмитрук В.С. Технологические факторы и фармакологические свойства экстракта *Prunella vulgaris* L. *Бюллетень СО РАМН*. 2001; 21 (3): 36–39.
10. Feng L., Jia X., Shi F., Chen Y. Identification of two polysaccharides from *Prunella vulgaris* L. and evaluation on their anti – lung adenocarcinoma activity. *Molecules*. 2010; 15 (8): 93–103. DOI: 10.3390/molecules15085093.
11. Gao W., Liang H., Li Y., Liu Y., Xu Y. Root extract of *Prunella vulgaris* inhibits *in vitro* and *in vivo* carcinogenesis in MCF-5 human breast carcinoma cells via suppression of angiogenesis, induction of apoptosis, cell cycle arrest and modulation of PI3K/AKT signalling pathway. *JBUON*. 2019; 24 (2): 549–554.
12. Плугатарь Ю.В., Шевчук О.М., Логвиненко Л.А. Виды рода *Prunella* – источник ценных биологически активных веществ. *Агарарный вестник Урала*. 2017; 8 (162): 37–45.
13. Шамилов А.А. Растения рода *Prunella*: химический состав, виды фармакологического действия. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2017; 4: 152–160.
14. Володин В.В., Груздев Б.И., Мартыненко В.А., Канев В.А. Растения – продуценты важнейших классов биологически активных веществ. Сыктывкар: Коми респ. типография, 2014: 206.
15. Цуркан А.А., Голембиовская Е.И. Исследование липофильных веществ черноголовки обыкновенной (*Prunella vulgaris* L.). Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. Пятигорск, 2013; 68: 217–19.
16. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность; ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: КМК; 2011: 4: Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. 236–239.
17. Шамилов А.А., Арлыт А.В., Ивашев М.Н. Активность извлечений из травы черноголовки крупноцветковой при гипоксической гипоксии. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2013; 5: 132–133.
18. Алексеева Л.И., Болотник Е.В. Розмариновая кислота и антиоксидантная активность *Prunella grandiflora* и *Prunella vulgaris* (Lamiaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2013; 1 (11): 121–125.
19. Makino T., Ono T., Muso E., Yoshida H., Honda G., Sasayama S. Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2000; 15 (8): 1140–145. DOI: 10.1093/ndt/15.8.1140.
20. Patrick P., Kalidas S. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase *in vitro*. *Asia Pacific J. Clin. Nutr*. 2004; 13 (1): 101–106.
21. Lu Y., Foo L.Y. Polyphenolics of *Salvia* – a review. *Phytochem*. 2002; 59 (2): 117–140. DOI: 10.1016/s0031-9422(01)00415-0.
22. Антосюк О.Н., Горская А.В. Оценка генетической активности лекарственных веществ, применяемых в противоопухолевой терапии, на примере *Drosophila melanogaster*. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2020; 12 (1): 50–56. DOI: 10.30906/2073-8099-2020-12-1-50-56.
23. Frei H., Wurgler F.E. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eucoriotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutagenesis*. 1996; 11 (4): 315–325. DOI: 10.1093/mutage/11.4.315.
24. Sortibrán A.N., Tellez M.G., Rodríguez-Arnaiz R. Genotoxic profile of inhibitors of topoisomerases I (camptothecin) and II (etoposide) in a mitotic recombination and sex-chromosome loss somatic eye assay of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res*. 2006; 604 (1-2): 83–90. DOI: 10.1016/j.mrgtox.2006.01.003.
25. Shahani S., Rostamnezhad M., Ghaffari-rad V., Gasemi A., Pourfallah T.A., Hosseinimehr S.J. Radioprotective effect of *Achillea millefolium* L. against genotoxicity, induced by ionizing radiation in human normal lymphocytes. *Dose Response*. 2015; 13 (1): 1559325815583761. DOI: 10.1177/1559325815583761.

Сведения об авторах

Антосюк Ольга Николаевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра биоразнообразия и биоэкологии, Институт естественных наук и математики, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0003-3902-298X.

Болотник Елизавета Витальевна, канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория интродукции травянистых растений, Ботанический сад УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0001-5774-3866.

Постовалова Алиса Сергеевна, студентка, УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург.

✉ Антосюк Ольга Николаевна, e-mail: antosuk-olga@mail.ru

Поступила в редакцию 17.02.2020
Подписана в печать 29.09.2020