

О.А. Лебедько^{1,2}, Б.Я. Рыжавский², О.В. Ткач², М.С. Кузнецова¹, О.Е. Гусева¹

ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭХИНОХРОМА А НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ БЛЕОМИЦИНОМ В ЛЕГКИХ КРЫС, НА РАННЕМ ЭТАПЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

¹Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания СО РАМН —
НИИ охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91;

²Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Резюме

Представлены данные исследования влияния антиоксиданта Эхинохрома А (2, 3, 5, 6, 8-пента-гидрокси-7-этил-1,4-нафтохинона) на легкие 45-суточных крыс, подвергнутых воздействию блеомицина однократно (1 мг/кг в/мышечно, в возрасте 30 суток) и трехкратному (1 мг/кг в/мышечно, ежедневно, с 30 по 32-е сутки). Показано, что пятикратное введение эхинохрома А (per os, в дозе 10 мг/кг, ежедневно, с 30 по 34-е сутки жизни) предотвратило структурно-метаболические изменения легких, формирующиеся в результате однократного введения блеомицина, но не оказало такого действия на легкие крыс, которым блеомицин вводился трехкратно.

Ключевые слова: метаболические нарушения, легкие, крысы, эхинохром.

O.A. Lebed'ko^{1,2}, B.Ya. Ryzhavskii², O.V. Tkach², M.S. Kuznetsova¹, O.E. Guseva¹

INFLUENCE ORAL ADMINISTRATION ECHINOCHROME A ON STRUCTURAL-METABOLIC DISORDERS, BLEOMYCIN-INDUCED IN THE RAT LUNG, EARLY STAGE POSTNATAL ONTOGENESIS

Summary

The authors present the data on the effect of antioxidant echinochrome A (2, 3, 5, 6, 8-penta-hydroxi-7-ethyl-1,4-naphto xenon) on the lungs of 45-day old rats, having been exposed to bleomycine one time (1 mg/kg IM, at the age of 30 days) and three times (1 mg/kg/IM, daily, from 30- to 32st day). It was revealed that five time introduction of echinochrome A (per os, in the dose 10 mg/kg, daily from 30- to 34 days of life) prevented structural and metabolic changes in the lungs developing due to once introduced bleomycine , but did not provide the same effect on the lungs of the rats who received bleomycine three times.

Key words: metabolic disorders, lungs, rats, echinochrome, bleomycine.

Блеомицин-индуцированные нарушения в легких характеризуются развитием воспалительных и фибротических изменений [3, 4, 6, 14]. Экспериментальные модели блеомицинового повреждения широко применяются для доклинической апробации средств профилактики и терапии легочного воспаления и пневмофиброза, в том числе на ранних этапах постнатального онтогенеза [2, 7, 11]. Одним из ключевых молекулярных механизмов формирования и прогрессирования воспалительно-фиброзных процессов в системе органов дыхания является оксидативный стресс, нарушающий баланс редокс-сенситивной регуляции апоптоза, пролиферации, дифференцировки, миграции мезенхимальных и эпителиальных клеток [5, 10, 12].

Ранее нами был выявлен выраженный антифибротический эффект внутримышечного введения антиоксиданта Эхинохрома А (2, 3, 5, 6, 8-пента-гидрокси-7-этил-1,4-нафтохинона) в отношении блеомицин-индуцированного повреждения легких у крыс в дорепродуктивном периоде онтогенеза. Введение эхинохрома А (в виде официального препарата «Раствор «Гистохрома» 0,02 % для инъекций) снижало выраженность оксидативного стресса, предотвращало развитие гипертрофии межальвеолярной соединительной ткани и лимфоидной перибронхи-

альной инфильтрации, нормализовало соотношение удельного объема межальвеолярных перегородок и просветов альвеол [2].

Фиброзирование легочной ткани служит важным фактором нарушения регенеративных процессов при большинстве хронических воспалительных заболеваний легких у детей. Установленный нами антифибротический эффект эхинохрома А открывает перспективу применения официального препарата на основе этого химического соединения в педиатрической пульмонологической практике. Тем не менее, следует отметить, что приоритетным в педиатрии является использование неинвазивных вмешательств. Поэтому для широкого внедрения в детскую пульмонологию наибольший интерес представляет разработка пероральной формы препарата.

Цель настоящего исследования – изучение влияния перорального введения эхинохрома А на структурно-метаболические нарушения, индуцированные блеомицином, в легких крыс на раннем этапе постнатального онтогенеза.

Материалы и методы

Опыт поставлен на крысах линии Вистар.

В первой серии эксперимента животные были разделены на три группы. Первая группа – «блеоми-

цин1» – введение блеомицина крысам в возрасте 30 дней, однократное, внутрибрюшинное, в дозе 1 мг/кг (8 крыс). Вторая группа «блеомицин1+эхинохром» – введение блеомицина, как и в первой группе, а также введение эхинохрома А через желудочный зонд в форме водного раствора, приготовленного *ex tempore*, в дозе 10 мг/кг в течение 5 суток (в день введения блеомицина, а также на 2-, 3-, 4- и 5-е сутки после этого – 9 крыс). Третья группа – «контроль» – однократное, внутрибрюшинное введение 30-дневным крысам физраствора в эквивалентных блеомицину дозах (8 крыс).

Вторая серия эксперимента, также как и первая, включала три группы животных.

Первая группа – «блеомицин3» – крысы, которым, начиная с возраста 30 дней, ежедневно, в течение трех дней внутрибрюшинно вводился блеомицин в дозе 1 мг/кг (8 крыс). Вторая группа – «блеомицин3 + эхинохром» – животные, получавшие как и в первой группе блеомицин, а также эхинохром А, который вводили тем же способом, что и в первой серии эксперимента: через желудочный зонд, в дозе 10 мг/кг, пятикратно (1-, 2-, 3 сутки во время введения блеомицина, 4- и 5 сутки – после его окончания – 9 крыс). Третья группа – «контроль» – 30-дневные животные, которым внутрибрюшинно трехкратно вводили физраствор в эквивалентных дозах с дозами блеомицина (8 крыс).

Все животные содержались в условиях одного содержания (животные одной серии – одновременно), корм и воду получали *ad libitum*. Эвтаназию крыс обеих экспериментальных серий проводили в возрасте 45 дней, декапитацией.

Легкие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали по стандартной методике в парафин. Готовили срезы толщиной 7 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином. Препараты подвергались обзорному изучению. При этом полуколичественно, в баллах, оценивали ряд показателей, закономерно изменяющихся в органе под влиянием блеомицина.

1. Наличие очагов с утолщениями межалвеолярных перегородок.

2. Наличие очагов, состоящих из «сливающихся» (в результате разрушения стенок) альвеол.

3. Наличие кист из мелких бронхов, бронхиол, альвеолярных ходов, альвеол.

4. Наличие большого числа «мелких» альвеол (диаметр просвета – меньше 30 мкм).

5. Утолщения стенок бронхов и стенок артерий (рис. 1-4).

Статистический анализ межгрупповых различий по перечисленным показателям проводили, используя точный метод Фишера. Для подтверждения процесса «слияния» альвеол в результате разрушения их стенок во всех случаях проводили при помощи окуляр-микрометра измерение поперечных диаметров наиболее крупных альвеол.

Оксидативный статус легких исследовали методом хемилюминесценции (ХМЛ). Регистрацию ХМЛ в гомогенатах легких осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER» по методикам, описанным ранее [1]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью *t* критерия Стью-

дента в программе Statistica 6.0. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В первой серии эксперимента изучение гистологических препаратов выявило, что у крыс, которым блеомицин был введен однократно, легкие имели ряд статистически значимых отличий от контроля по ряду исследованных показателей. Они проявлялись утолщением межалвеолярных перегородок, увеличением размеров наиболее крупных альвеол ($198 \pm 12,6$ мкм против $164 \pm 12,4$ мкм, $p < 0,05$), увеличением числа и размеров очагов, образованных «сливающимися» альвеолами, наличием кист, сформированных из расширенных мелких бронхов, бронхиол. При этом выявлялось увеличенное количество мелких альвеол. Это могло обуславливаться интенсификацией их образования, продолжающегося и в норме в постнатальном онтогенезе и направленной у экспериментальных животных на компенсацию уменьшения количества данных структур вследствие повреждения их блеомицином, то есть проявлением репаративной регенерации.

Результаты ХМЛ-исследования свидетельствовали, что патоморфологические изменения в легких крыс, повергнутых однократному воздействию блеомицина, развивались на фоне выраженного оксидативного стресса (таблица). Зарегистрировано повышение генерации свободных радикалов, в целом показатель S_{sp} превышал аналогичный в группе «контроль» в 2,6 раза, при этом продукция супероксид-анион радикалов (S_{luc}), перекисных радикалов (S_{ind-1}) возросла в 2,8 и 3,2 раза, соответственно. Зарегистрирована интенсификация первичного этапа перекисного окисления липидов: концентрация гидроперекисей липидов (h) превышала значения в группе «контроль» в 3,1 раза. Нарушения процессинга активных форм кислорода (АФК) сопровождалось ослаблением антиоксидантной антирадикальной защиты и снижением перекисной резистентности: величина S_{ind-2} возросла в 3,4 раза, амплитуда H – в 3,2 раза, соответственно.

Пятикратное введение эхинохрома А статистически значимо снизило выраженность оксидативного стресса в легких крыс, однократно получивших инъекцию блеомицина (таблица). Величины ХМЛ-параметров, характеризующих оксидативный статус (S_{sp} , S_{luc} , S_{ind-1} , h , S_{ind-2} , H), в группе «блеомицин1+эхинохром» были достоверно меньше, чем в группе «блеомицин1» – в 1,9, 2,0, 1,9, 2,0, 2,4, 2,3 раза, соответственно. По данным литературы, эхинохром А способен одновременно блокировать ряд звеньев свободнорадикальных реакций. Он действует как перехватчик активных форм кислорода, нейтрализует липопероксидные радикалы, хелатирует ионы металлов, ингибирует перекисное окисление липидов [8, 9, 13]. Это свойство эхинохром А продемонстрировал и в данной экспериментальной ситуации, о чем свидетельствовала соответствующая динамика (снижение) всех исследуемых ХМЛ-показателей.

Коррекция окислительного метаболизма отразилась на исследуемых морфологических показателях. У крыс группы «блеомицин1+эхинохром» не было выявлено статистически достоверного утолщения межалвеоляр-

ных перегородок, увеличения числа и размеров очагов, образованных «сливающимися» альвеолами. Размеры наиболее крупных альвеол равнялись 157 ± 12 мкм (у контрольных – $164 \pm 12,4$ мкм), то есть были достоверно меньше, чем у животных, которым вводили только блеомисин ($198 \pm 12,6$ мкм). Количество мелких альвеол также было меньше, чем у крыс, получавших только блеомисин. По всем этим показателям крысы, данной группы не имели достоверных отличий от животных контрольной группы (введение физраствора).

Во второй серии эксперимента в легких крыс, которым блеомисин вводился в течение 3 суток, обнаруживались статистически достоверные отличия от группы с введением физраствора по всем регистрировавшимся морфологическим показателям. При этом структурные изменения, наблюдавшиеся в группе «блеомисин3», были более выраженными, чем в группе «блеомисин1». В легких крыс группы «блеомисин3» обнаруживались выраженный периваскулярный и перибронхиальный фиброз, гиперплазия перибронхиальной лимфоидной ткани, а также – значительная гипертрофия соединительной ткани межальвеолярных перегородок. В отдельных случаях имелось утолщение средней оболочки артерий (рис. 1-4).

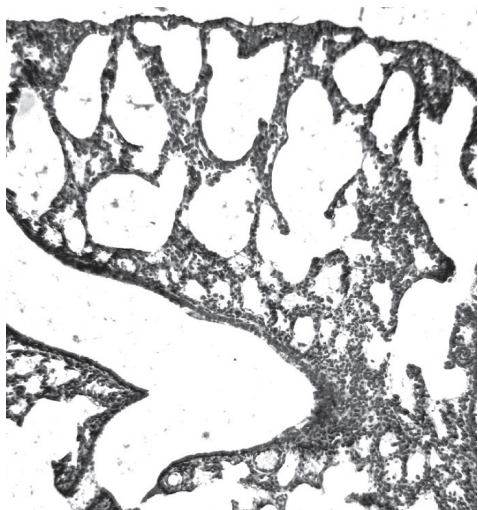


Рис. 1. Гипертрофия межальвеолярных перегородок легкого крысы группы «блеомисин3». Окраска гематоксилином и эозином

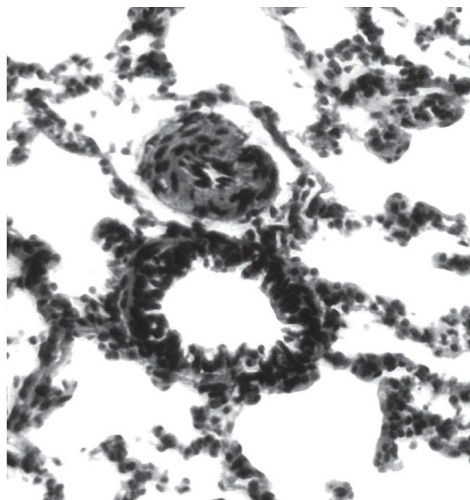


Рис. 2. Утолщение средней оболочки артерии легкого крысы группы «блеомисин3». Окраска гематоксилином и эозином

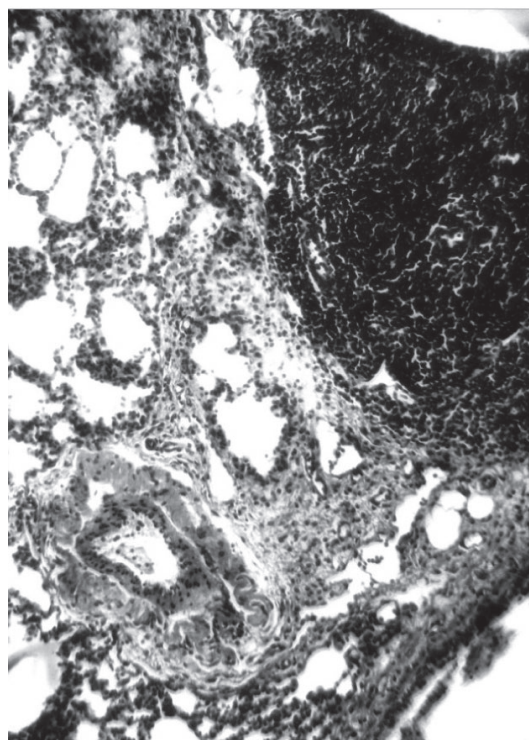


Рис. 3. Периваскулярный и перибронхиальный фиброз. Лимфоидная инфильтрация стенки бронха легкого крысы группы «блеомисин3». Окраска гематоксилином и эозином

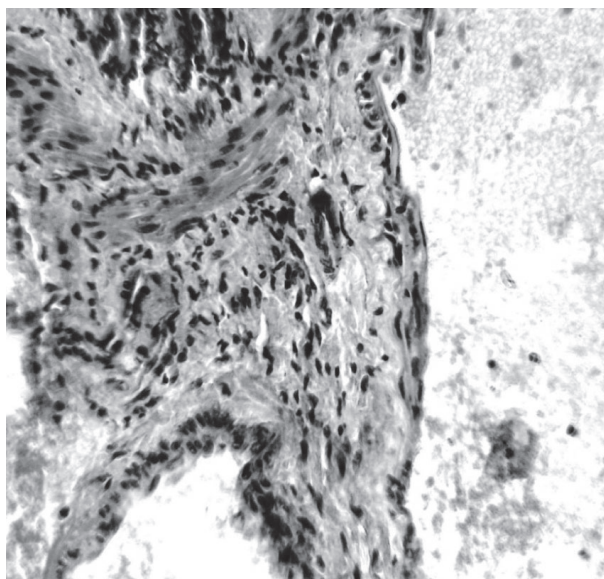


Рис. 4. Периваскулярный и перибронхиальный фиброз легкого группы «блеомисин3». Окраска гематоксилином и эозином

Данные морфологические изменения, вызванные трехкратным введением блеомисина, происходили в условиях нарастания тяжести оксидативного стресса. В легких крыс этой группы ХМЛ-показатели превышали контрольные уровни: S_{sp} – в 3,5 раза, h – в 3,9 раза, S_{ind-1} – в 3,6 раза, S_{luc} – в 3,7 раза, S_{ind-2} – в 4,3 раза, H – в 3,9 раза (таблица). Следует отметить, что, если при однократном воздействии блеомисина увеличение ХМЛ-показателей, в сравнении с контрольными, варьировало в диапазоне 2,6-3,4 раза, то при трехкратном воздействии препарата диапазон составлял 3,5-4,3 раза.

Влияние перорального введения эхинохрома А на показатели хемилюминесценции (в отн. ед.) легких 45-суточных белых крыс, подвергнутых воздействию блеомицина ($M \pm m$)

	S_{sp}	S_{ind-1}	h	S_{ind-2}	H	S_{inc}
1-я серия эксперимента (блеомицин однократно, эхинохром А пятикратно)						
Контроль	0,094±0,006	0,80±0,05	0,61±0,04	2,18±0,12	1,33±0,11	0,075±0,005
Блеомицин1	0,246±0,015*	2,62±0,14*	1,93±0,12*	7,36±0,25*	4,68±0,17*	0,214±0,012*
Блеомицин1 +эхинохром	0,130±0,009*,**	1,41±0,08*,**	1,00±0,08*,**	3,14±0,14*,**	2,30±0,12*,**	0,108±0,007*,**
2-я серия эксперимента (блеомицин трехкратно, эхинохром А пятикратно)						
Контроль	0,100±0,007	0,88±0,07	0,67±0,05	2,43±0,14	1,52±0,10	0,079±0,006
Блеомицин3	0,360±0,020*	3,22±0,16*	2,64±0,17*	10,40±0,52*	5,88±0,24*	0,298±0,018*
Блеомицин3 +эхинохром	0,305±0,019*	2,45±0,18*,**	1,82±0,10*,**	9,48±0,46*	4,20±0,20*,**	0,200±0,014*,**

Примечание. * – $p < 0,05$ – по отношению к группе «контроль» внутри каждой серии; ** – $p < 0,05$ – по отношению к группе «блеомицин» внутри каждой серии.

Пятикратное введение эхинохрома А корректировало интенсивность перекисного окисления липидов, на что указывает статистически значимое снижение h , S_{ind-1} и H относительно показателей группы «блеомицин3» в 1,3-, 1,5- и 1,4 раза, соответственно (таблица). Но основные интегративные параметры – S_{sp} и S_{ind-2} , характеризующие систему генерации и детоксикации активных форм кислорода в целом (с учетом белковой, углеводной, липидной и прочих составляющих биосубстрата), не имели достоверных отличий от аналогичных показателей у животных группы «блеомицин3». Действие эхинохрома А на окислительный статус легких крыс, получивших три инъекции блеомицина, ограничилось эффектом снижения активности процессов перекисидации липидов, что фактически не отразилось на выраженности деструктивных изменений: морфологические показатели, характеризующие повреждающее действие блеомицина на легкие у животных группы «блеомицин3+эхинохром», не имели достоверных отличий от таковых у крыс группы «блеомицин3».

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что пятикратное введение эхинохрома А предотвратило морфологические изменения легких, формирующиеся в результате однократного введения блеомицина, но не оказало такого действия на легкие крыс, которым блеомицин вводился трехкратно.

Ранее нами было показано, что антиоксидантные антирадикальные свойства лежат в основе реализации противовоспалительного и антифибротического эффектов эхинохрома А при парентеральном введении [2]. Результаты настоящего исследования свидетельствуют, что реализация этих эффектов возможна и при пероральном введении эхинохрома А, что расширяет возможности для его внедрения в качестве официального препарата в детскую пульмонологическую практику.

Работа выполнена частично за счет гранта 15-1-5-030 Программы фундаментальных исследований ДВО РАН «Дальний Восток» на 2015–2017 гг.

Литература

1. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. Свободнорадикальный статус неокортекса белых крыс и его модификация экзогенными производными тестостерона // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – № 4. – С. 95-99.
2. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я., Демидова О.В. Влияние антиоксиданта эхинохрома А на блеомицин-индуцированный пневмофиброз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159, № 3. – С. 329-332.
3. Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А. Формирование гиалиновых мембран в легких белых крыс как результат воздействия блеомицина в неонатальном периоде // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 9. – С. 379-383.
4. Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А., Демидова О.В. Влияние введения блеомицина крысам в конце молочного периода на структуру легких и свободнорадикальное окисление в них (отсроченные последствия) // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 81-84.
5. Cheresh P., Kim S.J., Tulasiram S., Kamp D.W. Oxidative stress and pulmonary fibrosis // Biochim. Biophys. Acta. – 2013. – Vol. 1832, № 7. – P. 1028-1040.
6. Della Latta V., Cecchetti A., Del Ry S., Morales M.A. Bleomycin in the setting of lung fibrosis induction: From biological mechanisms to counteractions // Pharmacol. Res. – 2015. – Vol. 97. – P. 122-130.
7. Gürbüz M., Sayar I., Cankaya M., et al. The preventive role of levosimendan against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats // Pharmacol. Rep. – 2016. – Vol. 68, № 2. – P. 378-382.
8. Krivoshepko O.N., Popov A.M., Artiukov A.A., Kostetskii E.Ia. Particularities of corrective action of polar lipids and bioantioxidants from sea hydrobionts at imbalances of lipid and carbohydrate metabolism // Biomed. Khim. – 2012. – Vol. 58, № 2. – P. 189-198.
9. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // Life Sci. – 2005. – Vol. 76, № 8. – P. 863-875.
10. Lee I.T., Yang C.M. Role of NADPH oxidase/ROS in proinflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases // Biochem. Pharmacol. – 2012. – Vol. 84, № 5. – P. 581-590.
11. Lucattelli M., Fineschi S., Selvi E., et al. Ajulemic acid exerts potent anti-fibrotic effect during the fibrogenic

phase of bleomycin lung // *Respir. Res.* – 2016. – Vol. 17, № 1. – P. 49.

12. Santos-Silva M.A., Pires K.M., Trajano E.T. et al. Redox imbalance and pulmonary function in bleomycin-induced fibrosis in C57BL/6, DBA/2, and BALB/c mice // *Toxicol Pathol.* – 2012. – Vol. 40, № 5. – P. 731-741.

13. Utkina N.K., Pokhilo N.D. Free radical scavenging activities of naturally occurring and synthetic analogues

of sea urchin naphthazarin pigments, *nat Prod Commun.* – 2012. – Vol. 7, № 7. – P. 901-904.

14. Williamson J.D., Sadofsky L.R., Hart S.P. The pathogenesis of bleomycin-induced lung injury in animals and its applicability to human idiopathic pulmonary fibrosis // *Exp. Lung Res.* – 2015. – Vol. 41, № 2. – P. 57-73.

Literature

1. Lebedko O.A., Rizhavskiy B.Ya., Zadvornaya O.V. Free-radical status of neocortex of white rats and its modification with exogenous derivatives of testosterone // *Far Eastern Medical Journal.* – 2011. – № 4. – P. 95-99.

2. Lebedko O.A., Rizhavskiy B.Ya., Demidova O.V. Influence of echinochrome A on bleomycin-induced pneumofibrosis // *Bulletin of experimental biology and medicine.* – 2015. – Vol. 159, № 3. – P. 329-332.

3. Rizhavskiy B.Ya., Lebedko O.A. Formation of hyaline membranes in white rats' lungs as a result of bleomycin influence in neonatal period // *Bulletin of experimental biology and medicine.* – 2015. – Vol. 160, № 9. – P. 379-383.

4. Rizhavskiy B.Ya., Lebedko O.A., Demidova O.V. Influence of bleomycin intake on lungs structure and free-radical oxidation (long lasting effects) of rats in late pre-weaning period // *Far Eastern Medical Journal.* – 2013. – № 2. – P. 81-84.

5. Cheres P., Kim S.J., Tulasiram S., Kamp D.W. Oxidative stress and pulmonary fibrosis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – Vol. 1832, № 7. – P. 1028-1040.

6. Della Latta V., Cecchetti A., Del Ry S., Morales M.A. Bleomycin in the setting of lung fibrosis induction: From biological mechanisms to counteractions // *Pharmacol. Res.* – 2015. – Vol. 97. – P. 122-130.

7. Gürbüz M., Sayar I., Cankaya M., et al. The preventive role of levosimendan against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats // *Pharmacol. Rep.* – 2016. – Vol. 68, № 2. – P. 378-382.

8. Krivoschapko O.N., Popov A.M., Artiukov A.A., Kostetskii E.Ia. Particularities of corrective action of polar lipids and bioantioxidants from sea hydrobionts at imbalances of lipid and carbohydrate metabolism // *Biomed. Khim.* – 2012. – Vol. 58, № 2. – P. 189-198.

9. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // *Life Sci.* – 2005. – Vol. 76, № 8. – P. 863-875.

10. Lee I.T., Yang C.M. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84, № 5. – P. 581-590.

11. Lucattelli M., Fineschi S., Selvi E., et al. Ajulemic acid exerts potent anti-fibrotic effect during the fibrogenic phase of bleomycin lung // *Respir. Res.* – 2016. – Vol. 17, № 1. – P. 49.

12. Santos-Silva M.A., Pires K.M., Trajano E.T., et al. Redox imbalance and pulmonary function in bleomycin-induced fibrosis in C57BL/6, DBA/2, and BALB/c mice // *Toxicol Pathol.* – 2012. – Vol. 40, № 5. – P. 731-741.

13. Utkina N.K., Pokhilo N.D. Free radical scavenging activities of naturally occurring and synthetic analogues of sea urchin naphthazarin pigments. *Nat Prod Commun.* – 2012. – Vol. 7, № 7. – P. 901-904.

14. Williamson J.D., Sadofsky L.R., Hart S.P. The pathogenesis of bleomycin-induced lung injury in animals and its applicability to human idiopathic pulmonary fibrosis // *Exp. Lung Res.* – 2015. – Vol. 41, № 2. – P. 57-73.

Координаты для связи с авторами: Лебедько Ольга Антоновна – д-р мед. наук, директор Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-980-591, e-mail: leoaf@mail.ru; Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96; Ткач Ольга Владимировна – аспирант кафедры биологии и гистологии ДВГМУ; Кузнецова Мария Станиславовна – аспирант, Хабаровский филиал ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru; Гусева Ольга Евгеньевна – канд. мед. наук, главный врач, старший научный сотрудник Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: o.guseva@bk.ru.

