

КИСЛОРОД-ИНДУЦИРОВАННАЯ РЕТИНОПАТИЯ КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ РЕТИНОПАТИИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

© *О.А. Коникина¹, Е.П. Федотова², В.В. Бржеский¹, Р.А. Насыров²*

¹Кафедра офтальмологии с курсом клинической фармакологии, ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ здравоохранения Российской Федерации;

²Кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины, ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ Российской Федерации.

✦ Разработана экспериментальная модель ретинопатии недоношенных (РН) на основе кислород-индуцированной ретинопатии у новорожденной крысы линии Wistar, предназначенная для изучения патоморфологических и функциональных проявлений заболевания. Исследование проведено на 60 новорождённых крысах линии Wistar. Основную группу составили 34 животных с моделью РН, контрольную — 26 экспериментальных животных. Из морфологических проявлений кислород-индуцированной ретинопатии преобладали явления апоптоза фоторецепторов, развитие патологической интратретиальной васкуляризации. Гистологические, а также электрофизиологические изменения обнаружены еще до формирования клинических признаков ретинопатии, отмечено значительное нарушение архитектоники незрелой сетчатки крысят после гипероксигенации.

✦ *Ключевые слова:* сетчатка; нейрофизиология; ретинопатия недоношенных; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Всестороннее изучение патогенеза ретинопатии недоношенных (РН), а также поиск новых методов профилактики и лечения этого тяжелейшего в клиническом и социальном аспектах заболевания представляет актуальную и своевременную задачу [4].

Как известно, в основе РН детей лежит нарушение физиологического васкулогенеза в незрелой сетчатке. Для нормального созревания и эффективной стимуляции выработки различных факторов роста, в том числе и факторов роста сосудов, внутриутробно плод находится в условиях физиологической гипоксии, которые закономерно нарушаются в момент преждевременного рождения ребенка. Как следствие, происходит торможение физиологической последовательности васкуляризации сетчатки [11, 14, 15, 20]. При этом дополнительная кислородная нагрузка, а точнее, колебания концентрации кислорода в окружающей незрелую сетчатку среде в постнатальном периоде, может усугублять рассматриваемые нарушения, вплоть до развития ретинальной и экстраретинальной неоваскуляризации и пролиферации [10].

Гипероксия окружающей среды приводит к торможению развития нормального сосудистого русла, что подтверждено в экспериментах на моделях кислород-индуцированной ретинопатии у крысы, доказавших факт облитерации уже имеющихся кровеносных сосудов. Эти изменения приходятся на I фазу развития РН [6, 21, 22].

Задержка развития собственной сосудистой сети, в свою очередь, приводит к тому, что она оказывается не в состоянии удовлетворить возрастающие потребности нейросенсорной сетчатки в кислороде: формируются локальные зоны гипоксии. В качестве следующего компенсаторного механизма, в ответ на гипоксию и ишемию включается процесс избыточной вазопротиферации с развитием неоваскуляризации.

К настоящему времени клинические проявления развивающегося заболевания изучены и описаны достаточно подробно [15, 20]. Вместе с тем, детальное изучение молекулярных аспектов патогенеза заболевания, а также морфофункционального состояния сетчатки в динамике патологического процесса в клинической практике недоступно, что закономерно требует изучения этого заболевания на его экспериментальных моделях.

Первая модель РН у крысы была разработана R. Patz в 1954 году в США (в период первой волны «эпидемии» этого заболевания в США). Более широкое распространение получила модель кислород-индуцированной ретинопатии S. Repp (1994), затем было предложено множество других её модификаций [6, 14, 19, 24]. При этом все модели РН базировались на последовательном чередовании условий гипероксии и гипоксии в среде, окружающей крысят сразу после рождения, и различались лишь по абсолютным цифрам концентрации кислорода в инкубаторе [12, 19, 21, 22].

Таблица 1

Периодичность проведения основных элементов офтальмологического обследования экспериментальных животных

Вид обследования	Этапы эксперимента (сут.)				
	10	18	19	21	45
Биомикроскопия	—	+	—	+	+
Офтальмоскопия	—	+	—	+	+
Фоторегистрация	—	—	—	+	+
Регистрация электроретинограммы	—	+	+	+	+
Гистологическое исследование	+	+	—	—	+

Как известно, сетчатка новорожденных крысят напоминает по своему строению сетчатку недоношенных новорожденных детей. Она является в значительной степени аваскулярной и крайне восприимчива к развитию ретинопатии. И если у человека васкуляризация сетчатки к моменту рождения завершается, то у крысы при рождении сохраняются обширные аваскулярные зоны, что делает этих животных наиболее привлекательными с точки зрения моделирования РН [6, 8].

Однако следует отметить, что восприимчивость к развитию кислород-индуцированной ретинопатии у крысы зависит от ее породы. Наиболее полно проявления ретинопатии изучены на животных линии Sprague-Dawley, поскольку у них к моменту рождения имеются относительно более широкие аваскулярные зоны, чем у других пород лабораторных крыс [24].

При этом о возможности воспроизведения кислород-индуцированной ретинопатии у крыс линии Wistar, наиболее доступных в нашей стране, в литературе имеются лишь единичные зарубежные сообщения [9, 18, 23].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать модель кислород-индуцированной ретинопатии у крыс линии Wistar и оценить эффективность полученной модели заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования послужили 60 новорожденных крыс линии Wistar. Экспериментальные животные были разделены на 2 группы: первую (основную) составили 34 новорожденные крысы (68 глаз) с моделью РН детей, вторую (контрольную) — 26 здоровых новорожденных крыс (52 глаз), не получавших дополнительно кислород в постнатальном периоде.

Все животные находились под наблюдением в течение 45 суток от момента рождения, то есть, до периода их полового созревания.

Моделирование кислород-индуцированной ретинопатии осуществляли, помещая крысят с 7 по 14 сутки их жизни в условия гипероксии, которые достигались путем непрерывной подачи 100 %-кислорода в инкубатор под давлением до достижения концентрации кислорода в инкубаторе в пределах 75 ± 5 %.

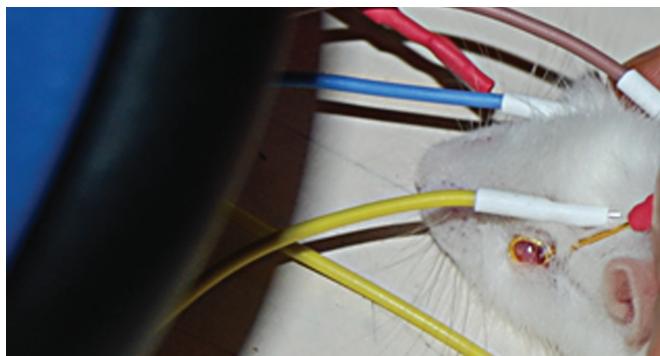


Рис. 1. Положение электродов при проведении электрофизиологического исследования

Первую неделю, а также, начиная с 14-х суток жизни и до конца эксперимента, животные основной группы пребывали в комнатных условиях (содержание кислорода 21,0 %). Крысы же контрольной группы находились вместе с кормящими матерями в комнатных условиях на протяжении всего эксперимента.

Методы обследования лабораторных животных включали биомикроскопию оптических сред глаза, офтальмоскопию, электрофизиологическое (скотопическая, максимальная и ритмическая 12 Hz электроретинограмма, рисунок 1), а также гистологическое исследование тканей сетчатки и сосудистой оболочки.

Периодичность проведения исследований представлена в таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты биомикроскопии крысят представлены в таблице 2.

Таблица 2

Характеристика выраженности эмбриональной сосудистой сети у животных основной и контрольной группы на 18-е сутки жизни (число глаз)

Группа наблюдения	Персистирующая гиалоидная сосудистая сеть	Функционирующая	
		Резидуальная	Не выражена
Основная (n = 44)	18	26	0
Контрольная (n = 38)	0	20	18

Таблица 3

Амплитуда b-волны (мкВ) различных видов электроретинограммы у здоровых крысят и животных с кислород-индуцированной ретинопатией на 18 сутки жизни

Вид электроретинограммы	Основная группа (n = 33)	Контрольная группа (n = 33)
Скотопическая ЭРГ	66,0 ± 6,8*	49,1 ± 3,9
Ритмическая ЭРГ 12Hz	9,3 ± 1,5	6,7 ± 0,5
Максимальная ЭРГ	90,5 ± 8,2*	64,0 ± 4,27

* — различия относительно контрольных величин статистически значимы, p < 0,05

Таблица 4

Амплитуда b-волны (мкВ) различных видов электроретинограммы у здоровых крысят и животных с кислород-индуцированной ретинопатией на 45 сутки жизни

Вид электроретинограммы	Основная группа (n = 8)	Контрольная группа (n = 8)
Скотопическая ЭРГ	77,3 ± 9,1*	46,9 ± 6,7
Ритмическая ЭРГ 12Hz	22,0 ± 4,8	20,7 ± 3,6
Максимальная ЭРГ	76,8 ± 5,4*	53,3 ± 3,1

* — различия относительно контрольных величин статистически значимы, p < 0,05

Известно, что в норме инволюция эмбриональной сосудистой сети происходит к 10–15 суткам жизни крысенка [8], оставляя за собой лишь единичные резидуальные тяжи, что и было обнаружено у животных контрольной группы. При этом по результатам биомикроскопии у каждого животного основной группы была выявлена персистирующая гиалоидная сосудистая сеть, а также *tunica vasculosa lentis*.

На момент проведения офтальмоскопического исследования в декретированные сроки признаков незавершенного васкулогенеза не было обнаружено ни у одного обследованного животного как контрольной, так и основной группы.

Результаты электрофизиологического исследования животных основной и контрольной групп, выполненного на 18 и 45 сутки жизни, представлены, соответственно, в таблицах 3 и 4.

По результатам проведенных исследований у животных с моделью РН выявлено достоверное превышение нормальных показателей некоторых видов ЭРГ, а именно, скотопического и максимального палочко-колбочкового ответа. При этом достоверных отличий в показателях амплитуды ритмической скотопической электроретинограммы у животных основной и контрольной групп обнаружено не было.

Выявленные изменения, вероятно, можно объяснить различием источников генерации импульсов при неидентичных условиях стимуляции сетчатки. Известно, что b-волна стандартной электроретинограммы зависит как от активности нейронов внутреннего ядерного слоя (главным образом оп-биполяров), так и от функционального состояния нейроглии, а именно, в большей степени, глиальных клеток Мюллера и, в конечном итоге, представляет собой интегральный нейроглиальный ответ. При увеличении частоты стимуляции свыше 2 Hz, клетки Мюллера не способны воспринимать световой ритм и, следовательно,

не могут участвовать в формировании регистрируемого сигнала, что позволяет трактовать амплитуду ритмической ЭРГ, как результат исключительно нейрональной активности сетчатки [1, 2, 3].

Таким образом, выявленные супернормальные показатели амплитуды b-волны стандартных видов ЭРГ у животных основной группы при отсутствии достоверных отличий в показателях ритмической ЭРГ могут быть связаны с изменением свойств глиальных клеток Мюллера, которые играют значительную роль в запуске и прогрессировании клеточной пролиферации при РН [7, 13, 16, 17, 19].

Результаты клинично-функционального обследования подтверждаются данными гистологического исследования.

Гистологическая картина сетчатки здорового животного на 9-е сутки жизни представлена на рис. 2. В препаратах глазных яблок крысят контрольной группы определялись единичные сосуды исключительно в ганглиозном слое сетчатки как в заднем полюсе, так и на периферии, у зубчатой линии, с уменьшением их количества и плотности по направлению от зрительного нерва к периферии.

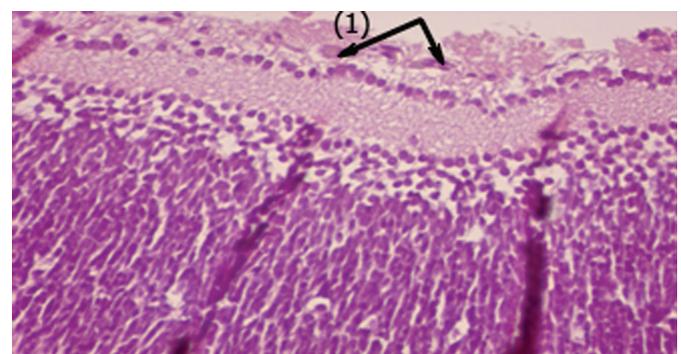


Рис. 2. Гистологический срез сетчатки крысят контрольной группы в области зубчатой линии, (1) — сосуды капиллярного типа в слое ганглиозных клеток сетчатки. Гем-эозин, увеличение × 400

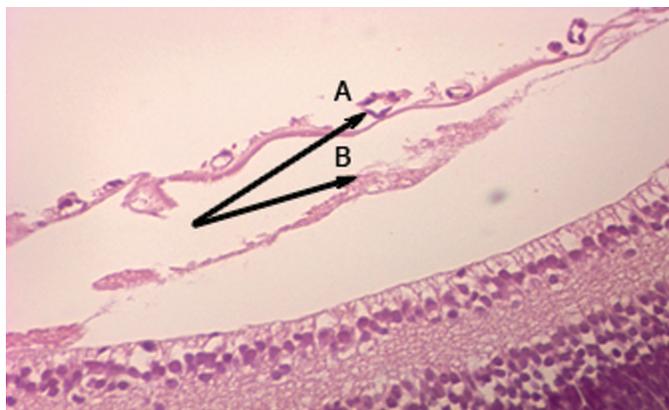


Рис. 3. Гистологический срез сетчатки крысы основной группы спустя 2 суток гипероксигенации: А — паретически расширенные капилляры, В — транссудат между задней гиалоидной мембраной и сетчаткой. Гем-эозин, увеличение $\times 400$

При этом васкуляризованная задняя гиалоидная мембрана плотно прилегала к проксимальной (внутренней) поверхности сетчатки.

У экспериментальных животных основной группы в те же сроки (9-е сутки жизни, 2-й день гипероксигенации) сосуды капиллярного типа в зоне задней гиалоидной мембраны оказались паретически расширенными, выявлена её отслойка вследствие накопления белковой жидкости в преретинальном пространстве (вероятно, транссудата, рис. 3).

В слое фоторецепторов у животных основной группы в тот же день эксперимента определялись апоптозные тельца (рис. 4).

В центральных отделах сетчатки на вторые сутки гипероксигенации определялся выраженный ангиоспазм.

Результаты выполненных гистологических исследований свидетельствуют о неоднозначном воздействии высоких доз кислорода на сосуды сетчатки

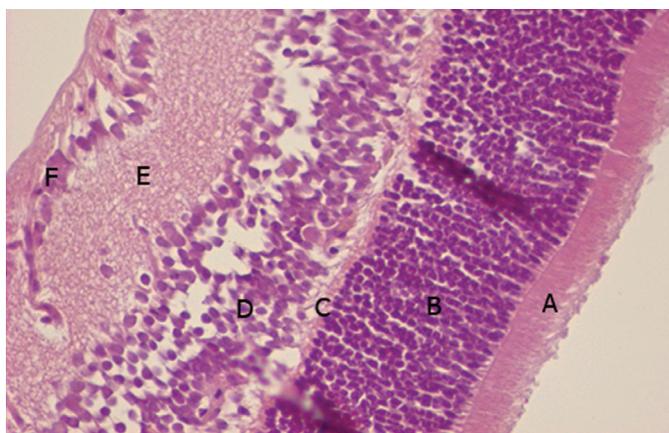


Рис. 5. Гистологическое строение сетчатки здорового крысенка контрольной группы на 18 сутки жизни: А — слой фоторецепторов, В — наружный ядерный слой, С — наружный плексиформный слой, D — внутренний ядерный слой, E — внутренний плексиформный слой, F — слой ганглиозных клеток. Гем-эозин, увеличение $\times 400$

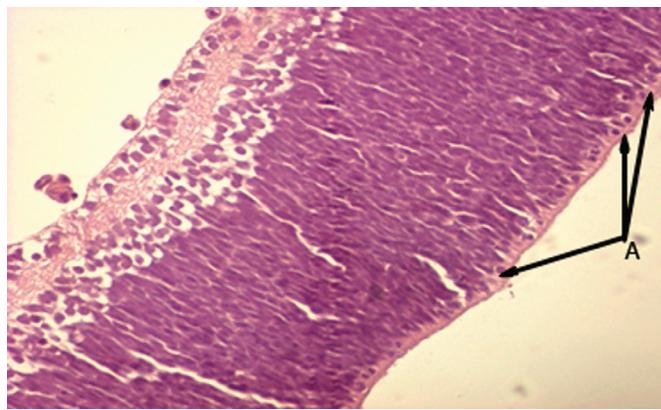


Рис. 4. Гистологический срез сетчатки крысы основной группы спустя 2 суток гипероксигенации в области зубчатой линии: А — апоптозные тельца. Гем-эозин, увеличение $\times 400$

крысят (2-е сутки гипероксигенации): одни паретически расширяются с появлением транссудата, другие, наоборот, спазмируются.

К 18-у дню жизни крысенка (4-е сутки относительной гипоксии в основной группе) различия морфологической картины сетчатки между основной и контрольной группами животных нарастали.

Нормальная гистологическая картина сетчатки здорового крысенка на 18 сутки жизни представлена на рисунке 5.

Из представленной фотографии видно, что в препарате сетчатки здоровых крысят на 18-й день их жизни дистальнее ганглиозного слоя сетчатки, а точнее, во внутреннем ядерном и наружном плексиформном слоях сетчатки, сосудов не обнаружено.

Вместе с тем, у животных основной группы выявлен интенсивный рост сосудов во внутреннем плексиформном, внутреннем ядерном, наружном плексиформном слоях (рис. 6).

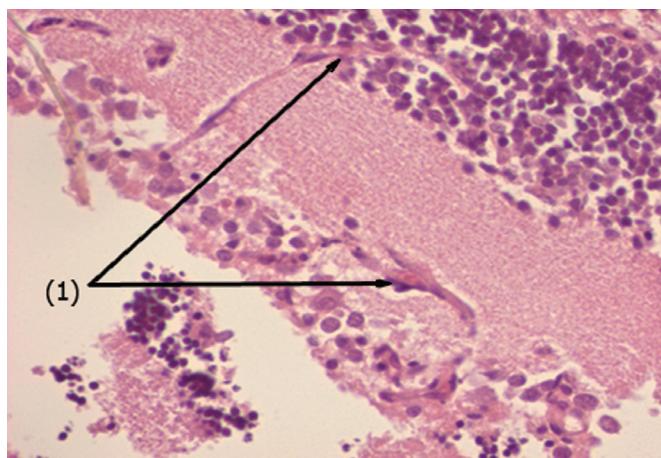


Рис. 6. Гистологические срезы сетчатки крысенка основной группы в возрасте 18 дней после 7 суток экспозиции в 75 % кислороде (7–14 сутки жизни): (1) — перпендикулярно растущие сосуды из слоя ганглиозных клеток в дистальные отделы. Гем-эозин, увеличение $\times 400$

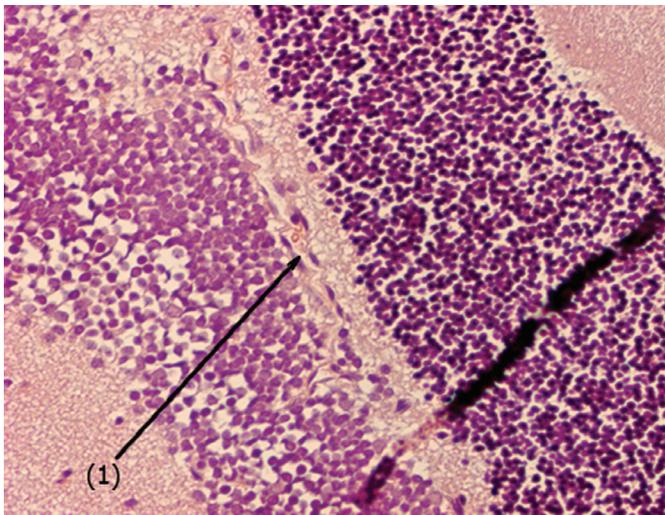


Рис. 7. Гистологический срез сетчатки крысы основной группы на 45 сутки жизни. (1) — сосуд капиллярного типа в наружном плексиформном слое сетчатки. (Гем-эозин, увеличение $\times 400$)

Выявленные гистологические изменения сохранялись в основной группе крыс и на 45-й день эксперимента. Так, у животных контрольной группы в периферических отделах сетчатки в ганглиозном слое визуализировались редкие сосуды капиллярного типа, единичные веточки которых распространялись до внутреннего ядерного слоя, дистальнее которого сосуды не были обнаружены.

Вместе с тем, у экспериментальных животных, перенесших недельную гипероксигенацию, сохранялась патологическая васкуляризация наружного плексиформного слоя сетчатки (рис. 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности экспериментального моделирования РН детей у крыс линии Wistar. Совокупность клинических, функциональных и гистологических исследований позволяет трактовать выявленные изменения в глазу крысят, перенесших гипероксигенацию, как кислород-индуцированную ретинопатию.

Необходимо отметить, что гистологические, а также электрофизиологические изменения были выявлены у животных еще до формирования клинических признаков ретинопатии, что сопровождалось значительным нарушением архитектоники незрелой сетчатки после периода гипероксигенации.

Из морфологических проявлений кислород-индуцированной ретинопатии преобладали явления апоптоза фоторецепторов периферических отделов сетчатки, развитие патологической интратретинальной васкуляризации, трансудация в преретинальное пространство на самых ранних этапах патологического процесса.

Показатели электрофизиологических исследований свидетельствуют об изменении функциональных свойств различных клеточных элементов сетчатки, вероятнее всего, за счет изменения метаболизма в глиальных клетках Мюллера в ответ на интратретинальную гипоксию и ишемию [5].

Учитывая сходство патогенеза, клинико-функциональных и гистологических проявлений кислород-индуцированной ретинопатии у крысят с ретинопатией у недоношенных детей, разработанная модель может служить в дальнейшем для оценки новых методов лечения, а также выбора дозы и путей введения лекарственных препаратов при ретинопатии недоношенных детей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке фармацевтической компании «Герофарм», которой авторы выражают искреннюю благодарность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бызов А. Л. Физиология сетчатки: нейромедиаторы и электрогенез // Клиническая физиология зрения: Сборник научных трудов. М.: «Русомед», 1993. — С. 12–27.
2. Зуева М. В., Цапенко И. В. Электрофизиологическая характеристика глиально-нейрональных взаимоотношений при ретинальной патологии // Сенсорные системы. — 1992. — № 3. — С. 58–63.
3. Зуева М. В., Цапенко И. В. Методика регистрации ритмической ЭРГ и перспективы ее развития в клинике глазных болезней // Клиническая физиология зрения, сборник научных трудов. М.: «Русомед», 1993. — С. 83–101.
4. Катаргина Л. А. Современное состояние проблемы ретинопатии недоношенных и задачи по улучшению офтальмологической помощи недоношенным детям в РФ // Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции «Ретинопатия недоношенных 2011». — М., 2011. — С. 5–10.
5. Неров В. В., Зуева М. В., Каламкар Г. П. Молекулярные механизмы ретинальной ишемии // Вестник офтальмологии. — 2010. — № 3. — С. 59–63.
6. Akula J. D., Favazza T. L., Mocko J. A. et al. The anatomy of the rat eye with oxygen-induced retinopathy // Doc. Ophthalmol. — 2010. — Vol. 120. — P. 41–50.
7. Bringmann A., Iandiev I., Pannicke T. et al. Cellular signaling and factors involved in Muller cell gliosis: Neuroprotective and detrimental effects // Progress in Retinal and Eye Research. — 2009. — Vol. 28. — P. 423–451.
8. Cairns J. E. Normal development of the hyaloid and Retinal vessels in the rat // Brit. J. Ophthalmol. — 1959. — Vol. 43. — P. 385–393.
9. Calogero G., Ricci B. Experimental oxygen-induced retinal detachment in the newborn Wistar rat // Doc. Ophthalmol. — 1994. — Vol. 87, N 4. — P. 315–329.
10. Cringle S. J., Yu Dao-Yi. Oxygen supply and consumption in the retina: implications for studies of retinopathy of prematurity // Doc. Ophthalmol. — 2010. — Vol. 120. — P. 99–109.

11. *Dembishka O., Rojas L. M., Varma D. R.* et al. Contribution of retinal maturation to the development of oxygen-induced retinopathy in rats // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2001. — Vol. 42, N 5. — P. 1111–1118.
12. *Dorfman A., Dembinska O., Chemtob S., Lachapelle P.* Early manifestations of postnatal hyperoxia on the retinal structure and function of the neonatal rat // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2008. — Vol. 49, N 1. — P. 458–466.
13. *Fleicher E. L., Downie L. E.* et al. The significance of neuronal and glial cell changes in the rat retina during oxygen-induced retinopathy // *Doc. Ophthalmol.* — 2010. — Vol. 120. — P. 67–86.
14. *Fruttiger M.* Development of the mouse retinal vasculature: angiogenesis versus vasculogenesis // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2002. — Vol. 43. — P. 522–527.
15. *Fulton A., Hansen R., Moskowitz A., Akula J.* The neurovascular retina in retinopathy of prematurity // *Progress in retinal and eye research.* — 2009. — Vol. 28. — P. 452–482.
16. *Jadhav A., Roesch K. Cepko C.* Development and neurogenic potential of Muller glial cells in the vertebrate // *Progress in Retinal and eye research.* — 2009. — Vol. 28. — P. 249–262.
17. *Loewen N., Chen J., Dudley V. J.* et al. Genomic response of hypoxic Muller cells involves the very low density lipoprotein receptor as part of an angiogenic network // *Exp. Eye Res.* — 2009. — Vol. 88. — P. 928–937.
18. *Ozkan H., Duman N., Kumral A.* et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced retinal neovascularization by retinoic acid in experimental retinopathy of prematurity // *Physiol. Res.* — 2006. — Vol. 55. — P. 267–275.
19. *Penn J. S., Henry M. M., Wall P. T., Tolman B. L.* The range of PaO₂ variation of oxygen-induced retinopathy in newborn rats // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1995. — Vol. 36, N 10. — P. 2063–2070.
20. *Ramirez J., Triviño A., Ramirez A.* et al. Structural Specialization of Human Retinal Glial Cells // *Vis. Res.* — 1996. — Vol. 36. — P. 2029–2036.
21. *Smith L.* Pathogenesis of retinopathy of prematurity // *Growth Hormone & IGF Research.* — 2004. — Vol. 14. — P. 140–144.
22. *Ștefănuț A. C., Miclăuș V., Mureșan A.* et al. Retinal neovascularisation in newborn rats submitted to variations of concentrations of oxygen. Histopathological aspects // *Veterinary Medicine.* — 2010. — Vol. 67, N 1. — P. 305–314.
23. *Stefanut A. C., Talu S., Milcaus V.* et al. Fractal analysis study of retinal development in Rats exposed to the alternating hyperoxia-hypoxia // *Annals of the Romanian Society for Cell Biology.* — 2013. — Vol. 18, N 1 — P. 239–246.
24. *Wijngaarden P., Douglas J. C., Brereton H. M.* et al. Strain-dependent differences in oxygen-induced retinopathy in the inbred rat // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2005. — Vol. 46, N. 4. — P. 1445–1452.

THE OXYGEN-INDUCED RETINOPATHY AS AN EXPERIMENTAL MODEL OF RETINOPATHY OF PREMATUREITY

Konikova O.A., Fedotova Ye.P., Brzheshkiy V.V., Nasyrov R.A.

Summary. The experimental model of retinopathy of prematurity was developed on the base of an oxygen-induced retinopathy in newborn. Wistar rats. This model was meant to investigate histopathological and functional manifestations of the disease. The study was performed on 60 newborn Wistar rats. The main experimental group included 34 animals with induced retinopathy of prematurity, the control group — 26 experimental animals. The predominating morphological manifestations of the oxygen-induced retinopathy were photoreceptor apoptosis, and the development of pathological intraretinal vascularization. Histological and electrophysiological changes were also detected even before the formation of clinical signs of retinopathy. There was a significant impairment of immature retina architectonic after induced hyperoxia.

Key words: retina; clinical neurophysiology; retinopathy of prematurity; rats.

Сведения об авторах:

Коникова Ольга Александровна — ассистент кафедры офтальмологии с курсом клинической фармакологии. СПбГПМУ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.
E-mail: olgakonikova@gmail.com.

Бржешкий Владимир Всеволодович — заведующий кафедрой офтальмологии с курсом клинической фармакологии. СПбГПМУ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.
E-mail: vbrzh@yandex.ru.

Федотова Елена Павловна — доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины. СПбГПМУ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.
E-mail: kris6060@mail.ru.

Насыров Руслан Абдулаевич — д. м. н. заведующий кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины. СПбГПМУ. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Konikova Olga Aleksandrovna — department of ophthalmology. St-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya St., 2.
E-mail: olgakonikova@gmail.com.

Brzheshkiy Vladimir Vsevolodovich — head of department of ophthalmology. St-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya St., 2.
E-mail: vbrzh@yandex.ru.

Fedotova Yelena Pavlovna — department of ophthalmology. St-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya St., 2.
E-mail: kris6060@mail.ru.

Nasyrov Ruslan Abdulayevich — head of department of pathological anatomy. St-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya St., 2.