YΔK 616-005.6-08

DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-64-70

Е. Ю. ВАСИНА¹, Е. Г. СУХОРУКОВА¹, С. Г. ЧЕФУ^{1,2}, Г. Ю. ЮКИНА¹, Н. Н. ПЕТРИЩЕВ^{1,2}

Моделирование фотодинамически-индуцированного тромбоза бедренной вены крыс

1 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства заравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197022 Россия Санкт-Петербург, уд. А. В. Толстого, д. 6-8

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

Статья поступила в редакцию 20.03.19; принята к печати 26.04.19

Цель работы – определение условий, обеспечивающих формирование стабильного тромба в бедренной вене крыс при фотодинамическом повреждении.

Материал и методы. Опыты проводились на крысах-самцах линии Вистар массой 250–270 г. Фотосенсибилизатор (ФС) Бенгальский розовый (ACROS ORGANICS, USA) (БР) вводили внутривенно в дозе 17 мг/кг и через 60 мин накладывали на бедренную вену сосудистый зажим. Дистальнее зажима проводили 30-минутное лазерное облучение вены (диодный лазер DPSS, Республика Южная Корея, 532 нм, 60 мВт, площадь облучения − 1 мм²). Зажим снимали через 90 мин после прекращения облучения. Кровоток регистрировали методом высокочастотной ультразвуковой допплерографии («Минимакс-Допплер-К», Россия). Прекращение кровотока рассматривали как показатель тромбоокклюзии бедренной вены.

Результаты. У крыс после снятия зажима кровоток в облученных венах отсутствовал и через 24 ч не восстанавливался. Гистологически выявлено выраженное повреждение всех слоев сосудистой стенки и формирование тромба, заполняющего просвет сосуда. После 30-минутного облучения без пережатия вены кровоток сохранялся, хотя были выявлены повреждения сосудистой стенки. Введение БР и клипирование сосуда без облучения вызывало минимальные повреждения сосудистой стенки и не приводило к тромбозу.

Заключение. Для тромбообразования в бедренной вене крыс при фотодинамическом воздействии необходимо дополнительное временное прекращение кровотока в облучаемом сосуде. Сочетание фотодинамического повреждения сосуда и стаза обеспечивает надежную воспроизводимость тромбоза бедренной вены.

Ключевые слова: фотодинамически-индуцированный тромбоз, бедренная вена, Бенгальский розовый

Для цитирования: Васина Е. Ю., Сухорукова Е. Г., Чефу С. Г., Юкина Г. Ю., Петрищев Н. Н. Моделирование фотодинамически-индуцированного тромбоза бедренной вены крыс. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2019;18(2):64—70. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-64-70

UDC 616-005.6-08

DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-64-70

E. Y. VASINA¹, E. G. SUKHORUKOVA¹, S. G. CHEFU^{1,2}, G. Yu. YUKINA¹, N. N. PETRISHCHEV^{1,2}

Simulation of photodynamically-induced thrombosis of the femoral vein of rats

Pavlov University, Russia, St. Petersburg
8 L'va Tolstogo street, St. Petersburg, Russia, 197022
Almazov National Medical Research Centre, Russia, St. Petersburg
Akkuratova street, St. Petersburg, Russia, 197341
e-mail: chefusveta@yandex.ru

Received 20.03.19; accepted 26.04.19

The purpose of the work is to determine the conditions that ensure the formation of a stable thrombus in the femoral vein of rats with photodynamic damage.

Material and methods. The experiments were carried out on male Wistar rats weighing 250–270 g. A photosensitizer (FS) Bengal rose (ACROS ORGANICS, USA) (BR) was administered intravenously at a dose of 17 mg/kg and after 60 minutes a vascular clamp was applied to the femoral vein. Distal to clamping, a 30-minute laser irradiation of a vein was performed (DPSS diode laser, Republic of South Korea, 532 nm, 60 mW, irradiation area – 1 mm²). The clamp was removed after 90 min

64 **Е. Ю. ВАСИНА** и **др.**

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2 e-mail: chefusveta@yandex.ru

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ (экспериментальные исследования) / ORIGINAL ARTICLES (experimental investigations)

after cessation of irradiation. The blood flow was recorded by the method of high-frequency Doppler ultrasound (Minimax-Doppler-K Russia). Cessation of blood flow was considered as an indicator of occlusion of femoral vein.

Results. Rats, after the clamp was removed, had no blood flow in the irradiated veins, and after 24 hours it was not restored. Histology revealed severe damage of all layers of the vascular wall and the formation of a blood clot filling the lumen of the vessel. After a 30-minute irradiation without clamping the vein, the blood flow was maintained, although damage to the vascular wall was detected. Introduction of BR and clipping of the vessel without irradiation caused minimal damage to the vascular wall and did not lead to thrombosis.

Keywords: photodynamically-induced thrombosis, femoral vein, Bengal rose

For citation: Vasina E. Y., Sukhorukova E. G., Chefu S. G., Yukina G. Yu., Petrishchev N. N. Simulation of photodynamically-induced thrombosis of the femoral vein of rats. Regional hemodynamics and microcirculation. 2019;18(2):64–70. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-64-70

Введение

В 1984 г. В. D. Watson et al. [1] впервые предложили использовать световое воздействие (560 нм) и фотосенсибилизатор (ФС) Бенгальский розовый (БР) для моделирования тромбоза сосудов. Исходя из механизма повреждения сосудов при этом воздействии, авторы назвали описанную ими модель «фотохимически-индуцированный тромбоз». Позже для моделирования тромбоза стали применяться и другие ФС (фотодитазин, эритрозин В) в сочетании с лазерным облучением соответствующей длины волны [2, 3], а также используются и другие названия этой модели — «лазерный фототромбоз» [4], «фотодинамически-индуцированный тромбоз» [3].

Модель фотодинамически-индуцированного тромбоза артерий широко используется при доклинических исследованиях препаратов, влияющих на процессы гемостаза [4–8].

Что касается фотодинамически-индуцированного тромбоза вен, то подробно описана модель тромбоза центральной вены сетчатки [2–4]. Более доступными для исследования являются периферические вены. В литературе имеются единичные описания моделирования фотодинамически-индуцированного тромбоза яремной вены у крыс [9].

Целью исследования было определение условий, обеспечивающих формирование стабильного тромба в бедренной вене крыс при фотодинамическом повреждении.

Материал и методы исследования

Экспериментальные животные. Исследования выполняли на крысах-самцах линии «Вистар» массой 250–290 г (ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») в соответствии с «Руководством по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова», составленным в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей [10]. Животные содержались на неограниченном потреблении стандартного корма K-120 («Информ-корм», Россия) и воды при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет:темнота). Температура поддерживалась в пределах 22–25 °C, относительная влажность – 50–70 %. Длительность карантина составляла 14 дней.

Моделирование тромбоза бедренной вены. В качестве фотосенсибилизатора (Φ C) использовали Бенгальский розовый, который вводили в виде 0,85 %-го раствора в 0,9 %-м стерильном растворе хлорида натрия в объеме 2 мл/кг (17 мг/кг) в хвостовую вену.

Через 45 мин после введения БР животных наркотизировали (хлоралгидрат 4,3 % в 0,9 %-м стерильном

растворе хлорида натрия в объеме 10 мл/кг) внутрибрюшинно и производили разрез кожи длиной около 3 см на внутренней поверхности бедра. Из сосудисто-нервного пучка выделяли участок бедренной вены длиной около 5 мм и подводили под него полоску непрозрачного пластика шириной 4 мм, изолируя тем самым окружающие ткани от последующего облучения.

Лазерное облучение вены проводили при помощи диодного лазера «DPSS» (Республика Южная Корея), длина волны -532 нм, мощность -60 мВт, площадь облучения -1 мм², время облучения -30 мин.

Исследование кровотока. Для регистрации линейной скорости кровотока в бедренной вене использовали метод высокочастотной ультразвуковой допплерографии («Минимакс-Допплер-К», частота датчика $-20~\mathrm{M}\Gamma$ ц).

Морфологическое исследование. Образцы для гистологического исследования забирали сразу после последнего измерения скорости кровотока. Участки сосудов с окружающими тканями и подлежащей пленкой фиксировали в 10 %-м нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН=7,4) в течение суток, обезвоживали в серии этанола возрастающей концентрации и заливали в парафиновые блоки по стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (Bio-Optica, Италия). Для выявления и дифференциации возраста фибрина использовали метод Пикро – Маллори (Віо-Optica, Италия). Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе Leica DM750 (Германия) при увеличении в 100 и 400 раз. Фотосъемку гистологических объектов выполняли, используя цифровую микрофотокамеру ICC50 (*Leica*, Германия).

Группы животных. Было проведено 3 серии экспериментов.

В первой серии опытов (n=5) через 1 ч после введения БР проводили лазерное облучение бедренной вены в течение 30 мин, после чего определяли скорость кровотока и забирали образцы для гистологического исследования.

Учитывая значение замедления скорости кровотока при моделировании тромбоза вен, во второй серии опытов (n=10) облучение проводили на фоне клипирования вены проксимальнее облучаемой зоны (клипса микрохирургическая сосудистая средняя, длина – 18 мм). Итоговый протокол был следующим: введение БР, через 60 мин – регистрация кровотока и клипирование бедренной вены, облучение вены в течение 30 мин дистальнее зажима, через 90 мин – снятие клипсы и повторная регистрация кровотока.

В третьей серии опытов (n=5) через 1 ч после введения БР на бедренную вену накладывали клипсу и через 120 мин проверяли наличие кровотока.



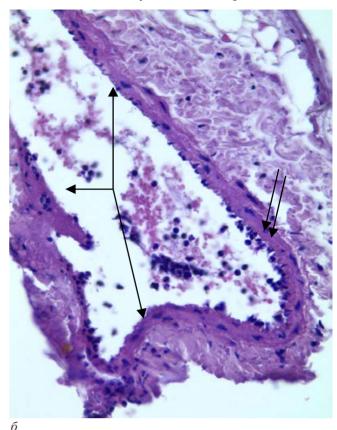


Рис. 1. Вена, окраска гематоксилином и эозином: *а* – общий вид, увеличение: окуляр ×10, объектив ×10; *б* – участок сосуда, увеличение: окуляр ×10, объектив ×40. Фигурная стрелка – участки деэндотелизации, двойная стрелка – краевое стояние нейтрофилов

Fig. 1. Vienna, stained with hematoxylin and eosin: a – general view, eyepiece: magnification ×10, lens ×10; δ – vessel section, eyepiece: magnification ×10, lens ×40. Figured arrow – deendothelization areas, double arrow – marginal standing of neutrophils

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью программного пакета IBM SPSS «Statistics Version 20». Значимость различий измеряемых параметров оценивали с помощью точного двухстороннего критерия Фишера. Значения р менее чем 0,05 рассматривали как значимые.

Результаты исследования и их обсуждение

В первой серии опытов после 30-минутного лазерного облучения бедренной вены (без клипирования) на фоне предварительного введения БР у всех крыс скорость кровотока значимо не менялась, т. е. проходимость вены сохранялась. При гистологическом исследовании установлено следующее: в вене определяется краевое стояние нейтрофильных лейкоцитов, в просвете сосуда выявляются эритроциты и большое количество нейтрофилов, отдельные участки деэндотелизации с повреждением медии. В адвентиции значимых изменений не наблюдается (рис. 1).

Таким образом, сразу после фотодинамического воздействия в стенке вены выявляются участки с повреждением интимы и медии, однако к образованию тромба это не привело.

Во второй серии опытов (30-минутное лазерное облучение бедренной вены + клипирование) после снятия зажима у всех животных кровоток отсутствовал (p<0,05 по сравнению с группами 1 и 3).

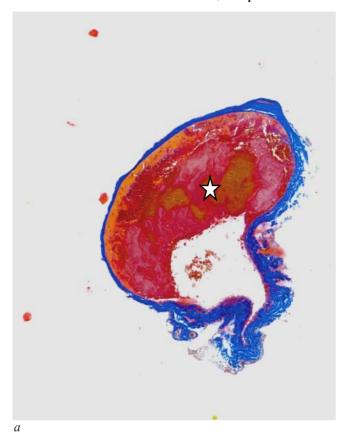
После снятия зажима в вене определяется «молодой» тромб с небольшим количеством лейкоцитов, на $^{2}/_{_{3}}$ заполняющий просвет сосуда. В остальной части

просвета наблюдается краевое стояние лейкоцитов (рис. 2). Эндотелий полностью отторгнут, субэндотелий на всем протяжении разрушен. Гладкие миоциты медии в некоторых местах полностью разрушены. Сохранившиеся миоциты резко растянуты, границы между клетками не определяются. В местах разрушения интимы и медии в адвентиции коллагеновые волокна гомогенизированы (рис. 2).

Таким образом, при фотодинамическом повреждении на фоне стаза выявляются повреждения всех оболочек стенки вены. В просвете сосуда определяется сформированный «молодой» тромб.

Ни у одного из 5 животных, у которых сосуды для гистологического исследования не иссекали, через 24 ч после фотодинамического воздействия кровоток в вене не восстановился.

При гистологическом исследовании выявлены фибриновые массы (1/3 просвета сосуда), формирующие зрелый тромб. В остальной части просвета сосуда находится скопление эритроцитов, единичные лейкоциты. Эндотелий полностью отторгнут, местами интима разрушена до мышечного слоя. В медии гладкие миоциты местами полностью разрушены. Единичные сохранившиеся миоциты отечны, границы между клетками нечеткие. Адвентиция пропитана эритроцитами и лейкоцитами. Местами выявляется гомогенизация коллагеновых волокон. В сохранившемся участке адвентиции сосуды сосудов расширены и полнокровны, с признаками стаза (рис. 3). Таким образом, через 24 ч в просвете сосуда выявляется «зрелый» тромб, определяются повреждения всех оболочек стенки вены.



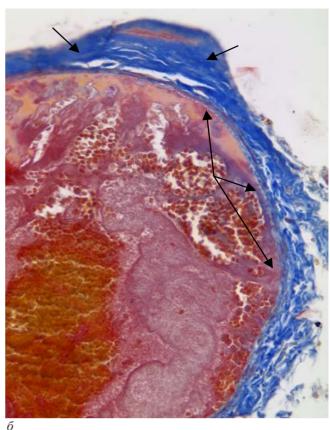


Рис. 2. Вена, окраска по методу Пикро — Маллори: a — общий вид, увеличение: окуляр ×10, объектив ×10; δ — участок сосуда, увеличение: окуляр ×10, объектив ×40. Звездочка — тромб в просвете сосуда. Фигурная стрелка — отсутствие эндотелия. Стрелка — гомогенизация медии и адвентиции Fig. 2. Vienna, coloring by the method of Picro — Mallory: a — general view, magnification: eyepiece ×10, lens ×10; δ — vessel section, magnification: eyepiece ×10, lens ×40. The asterisk is a blood clot in the lumen of the vessel. Arrow — the absence of endothelium. Arrow — homogenization of media and adventitia

В третьей серии опытов (введение БР + клипирование бедренной вены без облучения) после снятия клипсы у всех крыс скорость кровотока значимо не менялась, что свидетельствует об отсутствии тромбоокклюзии.

Просвет вены заполнен эритроцитарной массой с единичными лимфоцитами и нейтрофилами. На некоторых участках стенки сосуда целостность эндотелия нарушена. Сохранившийся эндотелий — без признаков повреждения. Гладкие миоциты медии — без видимых изменений, тканевой состав адвентиции сохранен. Таким образом, введение БР и длительный венозный стаз вызвали развитие начальных признаков повреждения сосудистой стенки, не приводящих к тромбозу (рис. $4, a, \delta$).

При сравнении представленных результатов с полученными ранее [5] возникает вопрос – почему при одних и тех же условиях фотодинамического воздействия в бедренной артерии крыс развивается тромбоз, а в бедренной вене – нет? По-видимому, это связано с тем, что в эндотелии и других клетках стенки артерий больше образуется тромбогенных веществ – тромбопластина, ф. Виллебранда, коллагена и др. [11]. В литературе имеются данные о более быстром образовании лазер-индуцированных тромбов в артериолах, по сравнению с венулами, в брыжейке крыс [12].

Наше объяснение согласуется с данными Y. Kim et al. [9], наблюдавшими большее повреждение эндотелия сонных артерий крыс, по сравнению с эндотелием яремных вен при фотодинамическом воздействии.

При фотодинамическом воздействии на стенку бедренной вены на фоне остановки кровотока создаются условия для более высокой концентрации тромбогенных факторов в зоне повреждения эндотелия, что и обеспечивает инициацию процесса тромбообразования.

Выводы

- 1. Для тромбообразования в бедренной вене крыс при фотодинамическом воздействии необходимо дополнительное временное прекращение кровотока в облучаемом сосуде.
- 2. Сочетание фотодинамического повреждения сосуда и стаза обеспечивает надежную воспроизводимость тромбоза бедренной вены.

Литература / References

- 1. Watson BD, Dalton W, Busto R, et al. induction of reproducible brain Infarction by photochemically initiated thrombosis. Ann Neurol. 1985;17(5):497–504. Doi: 10.1002/ana.410170513.
- 2. Белый Ю. А., Терещенко А. В., Шацких А. В. и др. Экспериментальное обоснование фотоиндуцированной модели тромбоза ветви центральной вены сетчатки // Офтальмохирургия. 2011. № 4. С. 54—58. [Belyj YuA, Tereshchenko AV, SHatskih AV i dr. Eksperimental'noe obosnovanie fotoindutsirovannoj modeli tromboza vetvi tsentral'noj veny setchatki. Oftal'mohirurgiya. 2011;(4):54—58.
- 3. Chen W, Wu Y, Zheng M et al. Establishing an experimental rat model of photodynamically-induced retinal vein occlu-

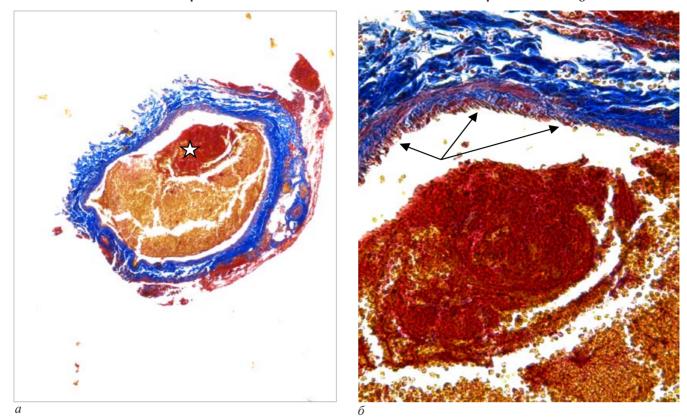


Рис. 3. Вена. Окраска по методу Пикро — Маллори: a — общий вид, увеличение: окуляр $\times 10$, объектив $\times 10$; δ — участок вены, увеличение: окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$. Звездочка — тромб в просвете сосуда. Фигурная стрелка — отсутствие эндотелия

Fig. 3. Vein. Coloring by the method of Picro – Mallory: general view, magnification: eyepiece ×10, lens ×10; *δ* – vein area, magnification: eyepiece ×10, lens ×40. The asterisk is a blood clot in the lumen of the vessel. Arrow – the absence of endothelium

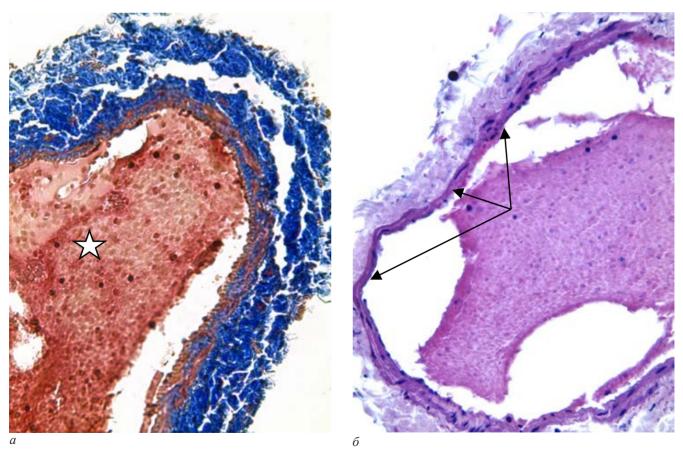


Рис. 4. a — участок вены, окраска по методу Пикро — Маллори, увеличение: окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$; δ — участок вены, окраска гематоксилином и эозином, увеличение: окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$. Фигурная стрелка — отсутствие эндотелия

Fig. 4. *a* – vein section, coloring according to the Picro – Mallory method, eyepiece: magnification ×10, lens ×40; *δ* – vein section, hematoxylin and eosin staining, eyepiece: magnification ×10, lens ×40. Arrow pattern – no endothelium

sion using erythrosin B. 2014;7(2):232–238. Doi: 10.3980/j. issn.2222-3959.2014.02.08.

- 4. Arroyo JG, Dastgheib K, Hatchell DL. Antithrombotic effect of ticlopidine in an experimental model of retinal vein occlusion. Jpn J Ophthalmol. 2001;45(4):359–362. Doi: 10.1016/S0021-5155(01)00337-9.
- 5. Модель экспериментального фототромбоза бедренной артерии крысы / Н. Н. Петрищев, Е. Ю. Васина, С. Г. Чефу, М. М. Шамцян // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2009. Т. 8, № 1. С. 42—45. [Petrishchev NN, Vasina EYu, CHefu SG, SHamcyan MM. Model'ehksperimental'nogo fototromboza bedrennoj arterii krysy. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2009;8(1):42—45. (In Russ.)].
- 6. Влияние препарата Нотромбел на процесс фотоиндуцированного тромбообразования / Е. Ю. Васина, С. Г. Чефу, Н. Н. Петрищев, О. С. Веселкина // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2017. — Т. 16, № 3. — С. 70—75. [Vasina EYu, CHefu SG, Petrishchev NN, Veselkina OS. Vliyanie preparata Notrombel na protsess fotoindutsirovannogo tromboobrazovaniya. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya. 2017;16(3):70—75. (In Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2017-16-3-70-75.
- 7. Matsuno H, Uematsu T, Nagashima S, Nakashima M. Photochemically Induced Thrombosis Model in Rat Femoral Artery and Evaluation of Effects of Heparin and Tissue-Type Plasminogen Activator With Use of This Model. Jf Pharmacological Methods. 1991;25:303–318. Doi: 10.1016/0160-5402 (91)90030-9.
- 8. Matsuno H, Uematsu T, Umemura K, takguchi Y et al. A simple and reproducible cerebral thrombosis model in rats induced by a photochemical reaction and the effect of a plasminogen—plasminogen activator chimera in this model. JPM. 1993;29(3):165–173. Doi:10.1016/1056-8719(93)90068-P.
- 9. Kim Y, Nakase H, Nagata K et al. Observation of arterial and venous thrombus formation by scanning and transmission electron microscopy. Acta Neurochir. 2004;146(1):45–51. Doi: 10.1007/s00701-003-0156-5.
- 10. Белозерцева И. В., Драволина О. А., Тур М. А. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова / под ред. Э. Э. Звартау. СПб.: СПбГМУ, 2014. 80 с. [Rukovodstvo po ispol'zovaniyu laboratornyh zhivotnyh dlya nauchnyh i uchebnyh celej v PSPbGMU im. akad. I. P. Pavlova / Belozerceva I.V., Dravolina O.A., Tur M.A.; pod red. EH. EH. Zvartau. SPb, izd-vo SPbGMU, 2014; 80 s.
- 11. Васина Л. В., Власов Т. Д., Петрищев Н. Н. Функциональная гетерогенность эндотелия // Артериальная гипертензия. 2017. Т. 23, № 2. С. 89—102. [Vasina LV, Vlasov TD, Petrishchev NN. Funktsional 'naya geterogennost' endoteliya. Arterial 'naya gipertenziya. 2017;23(2):89—102. Doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102.

12. Petrishchev NN, Mikhailova IA. Thrombi formation parameters in mesenteric arterioles and venules in rats. Thromb. Res. 1993;72(4):347–352. Doi: 10.1016/0049-3848 (93)90144-D.

Сведения об авторах

Васина Елена Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: elenavasina17@gmail.com.

Сухорукова Елена Геннадиевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: len48@ inbox.ru.

Чефу Светлана Григорьевна – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований Центра лазерной медицины Научно-образовательного института ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: chefusveta@yandex.ru.

Юкина Галина Юрьевна — канд. мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: pipson@inbox.ru.

Петришев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Author information

Vasina Elena Yu. – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: elenavasina17@gmail.com.

Sukhorukova Elena G. – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Associate of the Laboratory of Pathomorphology of the Research Center, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: len48@inbox.ru.

Chefu Svetlana G. – Candidate of Biological Sciences, Head of Experimental Research Laboratory of the Laser Medicine Center, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: chefusveta@yandex.ru.

Yukina Galina Yu. – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Pathomorphology of the Research Center, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: pipson@inbox.ru.

Petrishchev Nikolay N. – Dr. habil. of Medical Sciences, Professor of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: lasmed@yandex.ru.