

ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

**В.А.Доровских, О.Н.Ли, Н.В.Симонова, В.Ю.Доровских, М.А.Штарберг,
С.Ю.Ландышев, В.П.Мишук, Т.А.Савинова**

Амурская государственная медицинская академия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты исследований, направленных на решение важнейшей проблемы – защиты организма от стресса и экологически неблагоприятных факторов окружающей среды. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран организма крыс введением сукцинатсодержащих препаратов Ремаксол® и Цитофлавин® (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург). Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 15 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались воздействию холода в течение 3 часов ежедневно; подопытная группа, где животным перед охлаждением ежедневно внутривентрально вводили Ремаксол в дозе 100 мг/кг; подопытная группа, где крысам перед охлаждением ежедневно аналогичным способом вводили Цитофлавин в дозе 100 мг/кг. Установлено, что ежедневное холодное воздействие в течение трех часов способствует повышению в крови животных содержания гидроперекисей липидов (на 16-40%), диеновых конъюгатов (на 38-54%), малонового диальдегида (на 27-52%) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение крысам сукцинатсодержащих препаратов в условиях холодной нагрузки способствует достоверному снижению в плазме крови гидроперекисей липидов на 15-25%, диеновых конъюгатов – на 23-29%, малонового диальдегида – на 19-30% по сравнению с крысами контрольной группы. При анализе влияния сукцинатсодержащих препаратов на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмина в крови животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 18-45%, витамина Е – на 16-24%, каталазы – на 3-21%. Таким образом, использование сукцинатсодержащих препаратов Ремаксол и Цитофлавин в условиях длительного воздействия холода на организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: сукцинатсодержащие препараты, Ремаксол, Цитофлавин, холодовой стресс, перекисное окисление липидов биологических мембран, продукты пероксидации (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид), антиоксидантная система.

SUMMARY**EFFECT OF SUCCINATE CONTAINING DRUGS ON THE INTENSITY OF PEROXIDATION IN THE CONDITIONS OF COLD EXPOSURE**

**V.A.Dorovskikh, O.N.Li, N.V.Simonova,
V.Yu.Dorovskikh, M.A.Shtarberg, S.Yu.Landyshev,
V.P.Mishuk, T.A.Savinova**

*Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The main results of the studies are reviewed. These studies are aimed at solving an important problem of the organism protection against stress and environmentally unfavorable factors. In experimental conditions the possibility to correct free radical lipid oxidation of rats' organism membranes was studied with the introduction of the succinate containing drugs called Remaxol® and Cytoflavin® (Polysan, St. Petersburg). The animals were divided into 4 groups and each of them had 15 rats: intact animals which were held in standard conditions of vivarium; the control group in which rats were exposed to cold during three hours daily; the experimental group in which before cooling animals had a daily intra-abdominal intake of the Remaxol in a dose of 100 mg/kg; the experimental group in which before cooling animals had a daily intra-abdominal intake of Cytoflavin in a dose of 100 mg/kg. It was found out that in the blood of experimental animals a daily cold exposure during three hours contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 16-40%), of diene conjugate (by 38-54%), and of malonic dialdehyde (by 27-52%) against the decrease of antioxidant system activity in the blood of intact animals. The introduction of succinate containing drugs to rats in the conditions of cold exposure contributes to the reliable decrease in the blood of lipid hydroperoxides by 15-25%, of diene conjugates by 23-29%, and of malonic dialdehyde by 19-30% in comparison with the rats of the control group. While analyzing the effect of succinate containing drugs on the activity of the components of antioxidant system it was shown that the level of ceruloplasmin in the blood of animals was reliably higher by 18-45%, of vitamin E by 16-24%, of catalase by 3-21% in comparison with the same parameters of the rats of the control group. So, the application of succinate containing drugs called Remaxol and Cytoflavin in the conditions of long cold exposure of the organism of animals under experiment leads to the stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity.

Key words: succinate containing drugs, Remaxol, Cytoflavin, cold stress, biological membranes lipid perox-

idation, products of peroxidation (lipid hydroperoxides, diene conjugates, malonic dialdehyde), antioxidant system.

Воздействие низких температур на теплокровный организм увеличивает скорость потребления тканями кислорода, необходимого для энергетического обеспечения в условиях повышенной теплопродукции, что может стать причиной развития гипоксии [3], стимулирующей генерацию активных форм кислорода, которые инициируют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Несмотря на то, что процессы перекисидации играют большую роль в формировании адаптации животных и человека к холоду, чрезмерная интенсификация ПОЛ является патогенетическим звеном в развитии патологических состояний и заболеваний [5, 9, 11]. В связи с этим, оценка интенсивности процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной системы (АОС) при воздействии низких температур на организм, а также способы коррекции прооксидантного действия холода, представляют большой интерес.

Янтарная кислота служит универсальным промежуточным продуктом обмена веществ, выделяющимся при взаимодействии углеводов, протеинов и жиров в живых клетках. При увеличении нагрузки на какой-либо орган или систему организма, энергия для их работы в основном обеспечивается в результате процесса окисления сукцинатов, причем механизм производства энергии, использующий сукцинаты, работает в сотни раз эффективнее, чем все другие механизмы производства энергии в организме [1]. Препараты сукцинатов предупреждают процессы ПОЛ, поскольку янтарная кислота, являясь антиоксидантом, блокирует активность свободных радикалов [2]. Учитывая вышесказанное, экспериментальное обоснование эффективности применения сукцинатсодержащих препаратов Ремаксол® и Цитофлавин®, разработанных научно-технологической фармацевтической фирмой «Полисан» и апробированных на клинических базах кафедры анестезиологии и реаниматологии Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования, для коррекции процессов ПОЛ, индуцированных воздействием холода, является актуальным и открывает перспективы в регуляции различного рода стрессовых воздействий.

Цель исследования – изучение влияния сукцинатсодержащих препаратов на антиоксидантный статус теплокровного организма в условиях холодового воздействия.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре фармакологии Амурской государственной медицинской академии. Эксперимент проводили на 120 белых беспородных крысах-самках массой 150-180 г в течение 21 дня.

Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской

конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

При завершении исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно Приложению №4 «О порядке проведения эвтаназии умерщвления животного» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г.). Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Охлаждение животных осуществляли ежедневно в течение 3 часов в условиях климатокamеры Fentron (Германия), создавая температурный режим -15°C с соблюдением адекватных условий влажности и вентиляции [3]. Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 30 крыс: 1 группа – интактные животные, которых содержали в стандартных условиях вивария; 2 группа – контрольная, где крысы подвергались воздействию холода по 3 часа ежедневно; 3 и 4 группы – подопытные, где животным перед охлаждением (время экспозиции – 3 часа) ежедневно внутривенно вводили, соответственно, Ремаксол в дозе 100 мг/кг и Цитофлавин в дозе 100 мг/кг. Забой животных путем декапитации производили на 7, 14 и 21 сутки. Интенсивность процессов ПОЛ оценивали, исследуя содержание в крови животных гидроперекисей липидов (ГП), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и компонентов АОС – церулоплазмينا, витамина Е, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-ФДГ), каталазы по методикам, изложенным в ранее опубликованной нами работе [8]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено (табл. 1), что воздействие на крыс низких температур сопровождается активацией процессов ПОЛ и накоплением продуктов перекисидации в крови охлаждаемых животных: увеличением содержания ГП – на 22% (7 день), 29% (14 день) и 20% (21 день эксперимента) в сравнении с аналогичным показателем в группе интактных крыс; ДК – на 29% (7 день), 28% (14 день) и 35% (21 день эксперимента); МДА – на 34% (7 день), 42% (14 день) и 21% (21 день эксперимента), что согласуется с результатами исследований, опубликованных нами ранее [4, 5, 9]. В свою очередь, введение сукцинатсодержащих препаратов в условиях холодового воздействия сопровождалось достоверным снижением содержания продуктов радикального характера в сравнении с показателями в контрольной группе. На

фоне применения Ремаксола концентрация ГП уменьшилась на 16% (7 день), 25% (14 день) и 20% (21 день эксперимента); ДК – на 22% (7 день), 29% (14 день) и 23% (21 день эксперимента); МДА – на 31% (7 день), 38% (14 день) и 21% (21 день эксперимента). На фоне введения Цитофлавина содержание ГП снизилось на 12% (7 день), 21% (14 день), 20% (21 день эксперимента), ДК – на 24% (7 день), 25% (14 день) и 24% (21 день эксперимента), МДА – на 28% (7 день), 33% (14 день) и 20% (21 день эксперимента). Указанные изменения, на наш взгляд, вполне объяснимы и согласуются с литературными данными [12], поскольку использование сукцинатсодержащих препаратов на фоне воздействия низких температур увеличивает превращение

янтарной кислоты в организме, необходимое для обеспечения жизнедеятельности в экстремальных условиях, способствует увеличению выхода тепла при мышечном сокращении, позволяющего при сниженном уровне терморегуляторного тонуса увеличивать теплопродукцию на холоде, стабилизирует процессы липопероксидации в условиях холодовой экспериментальной модели. Анализируя показатели продуктов ПОЛ в динамике в условиях коррекции важно отметить, что наиболее выраженный стресс-протективный эффект на фоне применения препаратов, содержащих янтарную кислоту, наблюдался к концу второй недели эксперимента.

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ в крови экспериментальных животных (M±m)

Показатели, нмоль/мл	Сроки эксперимента	Интактные крысы	Воздействие холода	Холод и введение Ремаксола	Холод и введение Цитофлавина
ГП	7 день	26,0±1,8	33,2±1,1*	27,9±2,0	29,2±1,0
	14 день	25,0±2,7	35,2±1,2*	26,4±1,3**	27,9±1,1**
	21 день	28,6±1,5	35,6±1,1*	28,6±1,2**	28,4±1,0**
ДК	7 день	34,4±3,6	48,7±3,3*	37,8±1,9**	36,8±1,0**
	14 день	35,4±3,0	49,2±2,6*	35,1±1,4**	36,9±1,1**
	21 день	31,2±2,6	48,1±3,4*	36,8±1,1**	36,6±0,7**
МДА	7 день	3,8±0,1	5,8±0,2*	4,0±0,1**	4,2±0,1**
	14 день	3,8±0,2	6,6±0,4*	4,1±0,2**	4,4±0,3**
	21 день	4,4±0,3	5,6±0,3*	4,4±0,3**	4,5±0,2**

Примечание: здесь и далее * – достоверность различия показателей по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,05$); ** – достоверность различия показателей по сравнению с группой животных, к которым применяли только воздействие холода ($p < 0,05$).

Многочисленными литературными данными показано, что активация ПОЛ при холодовом воздействии на крыс развивается на фоне напряжения и истощения АОС, характерные изменения которой включают уменьшение содержания церулоплазмина и витамина Е, а также снижение активности каталазы и Гл-6-ФДГ [4, 5, 7, 12]. Данные факты были подтверждены результатами нашего эксперимента, которые свидетельствовали о достоверном снижении уровня церулоплазмина в крови контрольных крыс относительно интактных животных на 24-34%, витамина Е – на 17-28%, Гл-6-ФДГ – на 13-19%, каталазы – на 15-27% (табл. 2).

Использование сукцинатсодержащих препаратов для коррекции холодового воздействия способствовало повышению активности АОС в крови подопытных животных: на фоне введения Ремаксола содержание церулоплазмина выросло на 23% (7 день), 31% (14 день), 27% (21 день эксперимента) по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольных крыс; на фоне введения Цитофлавина – на 19%, 25% и 22%, соответственно, что, по-видимому, связано с восстановлением янтарной кислоты в дыхательной цепи митохондрий, возрастанием антиоксидантной активности глутатиона

и синтеза церулоплазмина путём введения экзогенного сукцинатсодержащего препарата. Уровень витамина Е при использовании Ремаксола в эксперименте достоверно увеличился на 17% (7 день), на 24% (14 день) и 15% (21 день), при использовании Цитофлавина – на 14-19% относительно контрольных животных. В свою очередь, исследование активности ферментов АОС в условиях коррекции введением препаратов, содержащих янтарную кислоту, позволило констатировать повышение активности Гл-6-ФДГ в среднем на 4-12%, каталазы – на 8-22%, однако различия показателей по сравнению с группой животных, к которым применяли только воздействие холода, были недостоверными, за исключением ферментной активности к концу эксперимента на фоне введения ремаксола. Таким образом, содержание основных компонентов АОС (церулоплазмина и витамина Е) в сыворотке крови экспериментальных животных, получавших Ремаксол и Цитофлавин в дозе 100 мг/кг внутривентриально, указывает на антиоксидантную активность сукцинатсодержащих препаратов, стабилизирующих процессы ПОЛ в условиях холодового воздействия.

Таблица 2

Содержание компонентов АОС в крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

Показатели	Сроки эксперимента	Интактные крысы	Воздействие холода	Холод и введение Ремаксола	Холод и введение Цитофлавина
Церулоплазмин, мкг/мл	7 день	30,0 $\pm$ 1,9	20,5 $\pm$ 1,5*	26,6 $\pm$ 2,8	25,4 $\pm$ 0,9**
	14 день	28,8 $\pm$ 1,4	19,1 $\pm$ 1,2*	27,7 $\pm$ 2,5**	25,4 $\pm$ 1,4**
	21 день	26,8 $\pm$ 1,4	20,3 $\pm$ 1,0*	27,7 $\pm$ 2,1**	26,1 $\pm$ 1,7**
Витамин Е, мкг/мл	7 день	48,7 $\pm$ 3,6	37,3 $\pm$ 1,5*	44,8 $\pm$ 1,7**	43,5 $\pm$ 1,5**
	14 день	47,5 $\pm$ 2,2	34,0 $\pm$ 1,6*	44,7 $\pm$ 1,5**	42,2 $\pm$ 1,0**
	21 день	45,8 $\pm$ 2,0	38,0 $\pm$ 1,6*	44,8 $\pm$ 1,4**	44,4 $\pm$ 1,6**
Гл-6-ФДГ, мкмоль НАДФН $\Gamma^{-1}c^{-1}$	7 день	6,9 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,2*	5,8 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 0,3
	14 день	6,8 $\pm$ 0,2	5,9 $\pm$ 0,2*	6,6 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 0,1
	21 день	6,7 $\pm$ 0,3	5,6 $\pm$ 0,2*	6,4 $\pm$ 0,2**	6,0 $\pm$ 0,2
Каталаза, мкмоль $H_2O_2 \Gamma^{-1}c^{-1}$	7 день	93,0 $\pm$ 2,7	78,6 $\pm$ 4,1*	85,2 $\pm$ 6,4	85,0 $\pm$ 3,8
	14 день	95,2 $\pm$ 3,2	72,8 $\pm$ 3,9*	86,8 $\pm$ 4,8	88,8 $\pm$ 5,0
	21 день	97,0 $\pm$ 3,5	71,0 $\pm$ 4,2*	91,0 $\pm$ 5,0**	81,4 $\pm$ 4,2

В целом, впервые экспериментально доказана эффективность применения препаратов Ремаксол и Цитофлавин, содержащих янтарную кислоту, в условиях холодового стресса, что позволяет рекомендовать данные лекарственные средства к использованию для коррекции патологических состояний, протекающих на фоне синдрома липидной перекисидации.

Выводы

1. Воздействие низких температур на теплокровный организм способствует формированию окислительного стресса в условиях накопления продуктов ПОЛ и снижения уровня основных компонентов АОС в крови крыс.

2. Введение сукцинатсодержащих препаратов Ремаксол и Цитофлавин в дозе 100 мг/кг лабораторным животным снижает интенсивность процессов перекисидации, индуцированных воздействием холода, что подтверждается уменьшением содержания продуктов ПОЛ на фоне достоверного увеличения активности основных компонентов АОС (церулоплазмина и витамина Е).

3. Исследование антиокислительной активности препаратов, содержащих янтарную кислоту, в динамике в течение 21 дня свидетельствовало о наиболее выраженном антиоксидантном эффекте Ремаксола и Цитофлавина к концу второй недели опыта в условиях холодовой экспериментальной модели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Янтарная кислота – основное действующее вещество новых метаболических препаратов / Л.С.Алексеева [и др.] // Врач. 2001. №12. С.29–30.
2. Афанасьев В.В. Цитофлавин в интенсивной терапии. Посobie для врачей. СПб., 2005. 36 с.
3. Доровских В.А. Фармакологическая коррекция

холодового воздействия в эксперименте: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ленинград, 1987. 48 с.

4. Эмоксипин в клинике и эксперименте / В.А.Доровских [и др.]. Благовещенск: АГМА, 2005. 110 с.

5. Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра... / В.А.Доровских [и др.]. Благовещенск: АГМА, 2006. 214 с.

6. Ли О.Н. Антиоксидантные свойства арабиногалактана в условиях холодового стресса: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 2011. 25 с.

7. Ли О.Н., Доровских В.А., Штарберг М.А. Антиоксидантные свойства арабиногалактана в условиях холодового стресса // Дальневост. мед. журн. 2011. №2. С.87–90.

8. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Адаптогены в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных воздействием холода и ультрафиолетовых лучей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып. 40. С.66–70.

9. Симонова Н.В. Фитопрепараты в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных ультрафиолетовым облучением: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Благовещенск, 2012. 46 с.

10. Настой лекарственных растений и окислительный стресс в условиях холодового воздействия / Н.В.Симонова [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.48. С.76–80.

11. Проблемы северной пульмонологии (от знания – к действию) / В.Ф.Ушаков [и др.]. Сургут: СурГУ, 2006. 118 с.

12. Шаповаленко Н.С. Фармакологическая регуляция холодового и теплового воздействия в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 2011. 25 с.

REFERENCES

1. Alekseeva L.S., Petrov A.V., Savateeva T.N., Kovalenko A.L., Golubev S., Romantsov M.G. *Vrach* 2001; 12: 29–30.
2. Afanas'ev V.V. *Tsitoflavin v intensivnoy terapii. Posobie dlya vrachey* [Cytoflavin in the intensive care unit. The Manual for physicians]. St. Petersburg; 2005.
3. Dorovskikh V.A. *Farmakologicheskaya korrektsiya kholodovogo vozdeystviya v eksperimente: avtoreferat dissertatsii doktora meditsinskikh nauk* [Pharmacological correction of cold exposure in the experiment: abstract of thesis...doctor of medical sciences]. Leningrad; 1987.
4. Dorovskikh V.A., Tseluyko S.S., Kodintsev V.V., Sayapina I.Yu., Klimova N.V., Zrazhevskaya S.G., Zhukovets I.V. *Emoksin v klinike i eksperimente* [Emoxipine in clinical and experimental]. Blagoveshchensk: AGMA; 2005.
5. Dorovskikh V.A., Korshunova N.V., Krasavina N.P., Simonova N.V., Tikhanov V.I., Simonova N.P. *Adaptogeny i kholodovoy stress: vchera, segodnya, zavtra...* [Adaptogens and cold stress: yesterday, today, tomorrow...]. Blagoveshchensk: AGMA; 2006.
6. Li O.N. *Antioxidantnye svoystva arabinogalaktana v usloviyakh kholodovogo stressa: avtoreferat dissertatsii kandidata meditsinskikh nauk* [Antioxidant properties of arabinogalactan in conditions of cold stress: abstract of thesis...candidate of medical sciences]. Vladivostok; 2011.
7. Li O.N., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2011; 2:87–90.
8. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2011; 40:66–70.
9. Simonova N.V. *Fitopreparaty v korrektsii protsessov perekisnogo okisleniya lipidov biomembran, indutsirovannykh ul'trafiolotovym oblucheniem: avtoreferat dissertatsii doktora biologicheskikh nauk* [Herbal medicinal products in the correction of lipid peroxidation of membranes induced by ultraviolet irradiation: abstract of thesis...doctor of biological sciences]. Blagoveshchensk; 2012.
10. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Li O.N., Shtarberg M.A., Simonova N.P. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2013; 48:76–80.
11. Ushakov V.F., Zavalovskaya L.I., Dorovskikh V.A., Bashkatov V.A., Gonorov N.D. *Problemy severnoy pul'monologii (ot znaniya – k deystviyu)* [Problems of Northern pulmonology (from knowledge – to action)]. Surgut: SurGU; 2006.
12. Shapovalenko N.S. *Farmakologicheskaya regulatsiya kholodovogo i teplovogo vozdeystviya v eksperimente: avtoreferat dissertatsii kandidata meditsinskikh nauk* [Pharmacological regulation of cold and heat exposure in the experiment: abstract of thesis...candidate of medical sciences]. Vladivostok; 2011.

Поступила 15.07.2013

Контактная информация

Владимир Анатольевич Доровских,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: agma@amur.ru

Correspondence should be addressed to

Vladimir A. Dorovskikh,
MD, PhD, Professor, Head of Department of Pharmacology,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: agma@amur.ru