

УДК 616-001.18(612.35:612.127.2)]612-092.9

ТРИПЛЕТНАЯ И АКТИВНАЯ ФОРМЫ КИСЛОРОДА ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ФОНЕ ОХЛАЖДЕНИЯ ПРИ ВВЕДЕНИИ АЦЕТИЛХОЛИНА IN SITU

В.И.Тиханов¹, Н.А.Лосев², В.А.Доровских¹, Д.П.Решодько¹,
И.В.Тиханов³, Р.А.Анохина¹, Е.Г.Роговченко⁴¹Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95²НИИ экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН,
197376, г. Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12³Медико-санитарная часть №78 Федеральной службы исполнения наказаний России,
191014, г. Санкт-Петербург, набережная реки Фонтанки, 36А⁴Амурская областная клиническая больница, 675028, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования по определению триплетной формы кислорода в гомогенате печени, определена его способность продуцировать активные формы кислорода in vitro при введении лабораторным животным на фоне кратковременной холодовой нагрузки неостигмина (прозерин), накапливающего в тканях эндогенный ацетилхолин антихолинэстеразными механизмами. Полученные данные сопоставлялись с результатами экспериментов определения триплетной формы кислорода в гомогенате печени, его способностью продуцировать активные формы кислорода in vitro при введении в ткань печени экзогенного ацетилхолина in situ. Установлено, что кратковременная холодовая нагрузка увеличивает содержание триплетной формы кислорода в ткани печени животных и увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода. Введение неостигмина увеличивает только способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода, подтверждением этому служит и изменение экстинкции раствора, содержащего тетранитротетразолиевый синий инкубационной среды. Экзогенное введение ацетилхолина в ткань печени в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М увеличивает содержание триплетной формы кислорода, увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода, что подтверждается увеличением восстановления тетранитротетразолиевого синего в инкубационной среде.

Ключевые слова: холодовой стресс, печень, неостигмин (прозерин), ацетилхолин, триплетная форма кислорода, активные формы кислорода.

SUMMARY

TRIPLET AND REACTIVE OXYGEN SPECIES OF LIVER TISSUE IN EXPERIMENTAL ANIMALS AGAINST COOLING UNDER INTRODUCTION ACETYLCHOLINE IN SITU

V.I.Tikhanov¹, N.A.Losev², V.A.Dorovskikh¹,
D.P.Reshod'ko¹, I.V.Tikhanov³, R.A.Anokhina¹,
E.G.Rogovchenko⁴¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str.,

Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

²Research Institute of Experimental Medicine of Northwest Branch RAMS, 12 akad. Pavlova Str.,
St. Petersburg, 197376, Russian Federation³Medical Care Unit №78 of the Federal Penitentiary Service of Russia, 36A Fontanka River Emb.,
St. Petersburg, 191014, Russian Federation⁴Amur Regional Clinical Hospital, 26 Voronkova Str.,
Blagoveshchensk, 675028, Russian Federation

The studies to identify the triplet oxygen species in liver homogenate were done; its ability to produce the reactive oxygen species in vitro under introduction to laboratory animals against short-term cold pressure of neostigmine which accumulates in the tissues endogen acetylcholine by anticholinesterase mechanisms. The obtained data were compared with the results of experiments of identifying triplet oxygen species in liver homogenate, its ability to produce reactive oxygen species in vitro under introduction into the liver tissue of acetylcholine in situ. It was found out that short-term cold pressure increases the concentration of triplet oxygen species in liver tissue of animals and increases the ability of liver homogenate to produce reactive oxygen species. The introduction of neostigmine increases only the ability of liver homogenate to produce reactive oxygen species, which is proved by the changes of extinction of the solution containing tetranitrotetrazolium blue of incubation medium. The exogenic introduction of acetylcholine in the tissue of the liver in the molar concentration of 1.1×10^{-4} M increases the concentration of the triplet oxygen species, improves the ability of liver homogenate to produce reactive oxygen species, which is proved by the restoration of tetranitrotetrazolium blue in the incubation medium.

Key words: cold stress, liver, neostigmine (proserine), acetylcholine, triplet oxygen, reactive oxygen species.

Нахождение триплетной формы кислорода (молекулярный кислород) в тканевой среде печени обуславливает его присутствие при аллильных, бис-аллильных углеродных атомах алифатических цепочек монокарбоновых (жирных) кислот [12, 15].

Двойные связи атомов углерода создают условия для внедрения кислорода в структуру монокарбоновых (жирных) кислот ферментативными и неферментативными механизмами с последующим развитием фено-

мена перекисного (свободнорадикального) окисления липидов [9, 13].

В предыдущих исследованиях нами были получены факты, свидетельствующие о том, что непрямой мускарино- и никотино- чувствительный холиномиметик неостигмин (прозерин) на фоне кратковременной холодовой нагрузки способен влиять на содержание триплетной формы кислорода в гомогенате печени и вызывать изменения в содержании активных форм кислорода [5], но вопросы, связанные с определением его активной и триплетной форм при экзогенном введении в ткань печени ацетилхолина *in situ* не затрагивались, в связи с чем и опубликовываются полученные данные.

Материалы и методы исследования

Работа выполнялась на крысах-самцах массой 150-200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением режима кормления, тепла, без ограничения доступа к питьевой воде.

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». Исследование одобрено этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Охлаждение животных проводили в климатоканере в течение 3 часов, при температуре -12°C . За 30 минут до охлаждения животным вводили неостигмин (прозерин) в дозе 0,2 мг/кг веса. Критерием выбора фармакологического агента служит факт накопления эндогенного ацетилхолина, вызываемого антихолинэстеразными механизмами и возможность вызывать только периферические холиномиметические эффекты. О возбуждении периферических никотино- и мускариночувствительных ацетилхолинореактивных структур неостигмином свидетельствовали единичные сокращения скелетной мускулатуры и обильная саливация экспериментальных животных [1, 5].

Техникой канюлирования одной из брыжеечных артерий кишечника животных и выходом на порталный венозный синус печени добивались прохождения через сосуды раствора, содержащего ацетилхолин молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М. Последняя соответствует дозе неостигмина, вызывающей по визуальным признакам накопление эндогенного ацетилхолина [1, 6].

После завершения исследований животным проводилась декапитация с соблюдением требований гуманности согласно Приложению №4 «Порядок проведения

эвтаназии (умерщвления животного)» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г.).

После вскрытия брюшной и грудной полостей извлекали печень, взвешивали, измельчали и обрабатывали в гомогенизаторе Даунса с использованием аминотанового буфера в соотношении 1:3 для приготовления гомогената [2].

При определении триплетной формы кислорода, в жидкую фазу электролизёра, содержащую 0,05 М раствор аминотанового буфера ($\text{pH}=7,4$) добавляли 1 мл гомогената печени, приготовленного на основе трис-буфера в соотношении 1:3 [2]. Учитывая, что триплетная форма кислорода электронейтральна [4], по степени нарастания сопротивления на основном электроде электролизёра судили о количественном содержании этой формы кислорода в гомогенате печени [7].

В электролизной ячейке определялась и способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода. Используя феномен ферментативного переноса электрона на молекулу кислорода оксидоредуктазами и формирования супероксидного аниона ($\text{O}_2^{\cdot -}$) [3] с дальнейшим образованием гидроксильных радикалов ($\text{HO}^{\cdot}$), реакциями Хабера-Вейса и Фентона определяли способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода. В ячейку помещали 0,1 М раствор глюкозооксидазы с поддержанием температуры среды в инкубационной среде 37°C . По изменению величины тока на выходе электролитической ячейки определяли способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода.

В качестве контроля за продукцией активных форм кислорода гомогенатом печени использовали определение оптической плотности 0,002% раствора тетра-нитротетразолиевого синего (ТНТС), при длине волны 560 нм [3, 8, 13]. Изменение экстинкции инкубационного раствора, содержащего гомогенат печени и ТНТС, свидетельствовало о формировании активных форм кислорода.

Статистическую обработку результатов проводили методом ANOVA с применением непараметрического дисперсионного анализа (W.H.Kruskal, W.A.Wallis), парного критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Количественные значения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1 и Q3), где Q1 – 5 перцентиль, Q3 – 95 перцентиль.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные в эксперименте и опубликованные ранее данные [5] о содержании триплетной формы кислорода в гомогенате печени после трехчасовой холодовой нагрузки у животных свидетельствуют о увеличении его содержания на 5,7% (табл. 1). Так, если у интактных крыс 1 группы (контроль₁) триплетная форма кислорода определялась на уровне 349 (от 328,6 до 376,7) мкмоль/мл гомогената, то у животных 2 группы (контроль₂), к которым применяли холодовое

воздействие, показатели оценивались в 369,5 (от 365,1 до 411,6) мкмоль/мл гомогената. Введение неостигмина на фоне холодового воздействия животным 3

группы (опыт) приводило к снижению содержания кислорода на 7,7% при сравнении результатов с группой контроль₂ (табл. 1).

Таблица 1

Триплетная форма кислорода в гомогенате печени экспериментальных животных

Показатель	1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (холод)	3 группа – опыт (холод+прозерин)
Триплетная форма кислорода, мкмоль O ₂ /мл гомогената	349,3 [328,6; 376,7]	369,5 [365,1; 411,6] p ₂₋₁ =0,00145	343,0 [328,4; 376,6] p ₃₋₁ =0,00117; p ₃₋₂ >0,05
Количество проб	n=6	n=6	n=6

В качестве рабочей гипотезы мы высказывали предположение о возможном влиянии возникающего после введения антихолинэстеразных средств бронхоспазма [1] на изменение содержания кислорода в гомогенате печени [5, 10, 11, 14].

Определяя триплетную форму кислорода в гомогенате печени, мы также затрагивали вопрос о способно-

сти последнего продуцировать активные формы кислорода при введении неостигмина и кратковременном охлаждении экспериментальных животных. Холодовая нагрузка и введение животным неостигмина увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода на 13 и 6%, соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Активные формы кислорода в гомогенате печени экспериментальных животных

Показатель	1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (холод)	3 группа – опыт (холод+прозерин)
Активные формы кислорода, 10 ⁻⁶ Амп/мл гомогената	8,68 [8,2; 9,48]	9,81 [9,38; 10,35] p ₂₋₁ =0,036	10,41 [10,12; 10,61] p ₃₋₁ =0,0001; p ₃₋₂ =0,0403
Количество проб	n=6	n=6	n=6

Изменение оптической плотности раствора, содержащего 0,002% раствор ТНТС в инкубационной среде совместно с гомогенатом печени мы трактуем как оптический контроль за формированием активных форм кислорода ткани печени (табл. 3). Экспериментальные данные свидетельствуют: добавление в инкубацион-

ную среду с содержанием ТНТС гомогената печени животных, подвергавшихся только холодовой нагрузке, и гомогената печени крыс, которым вводили неостигмин на фоне холодового воздействия, увеличивает восстановление ТНТС на 167,0 и 7,5%, соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Изменение оптической плотности тетранитротетразолиевого синего в инкубационной среде, содержащей гомогенат печени экспериментальных животных, λ=560 нм

1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (холод)	3 группа – опыт (холод+прозерин)
0,00842 [0,0075; 0,0093]	0,0225 [0,0223; 0,024] p ₂₋₁ =0,00394	0,0242 [0,0236; 0,0248] p ₃₋₁ =0,00395; p ₃₋₂ =0,001
n=6	n=6	n=6

Таким образом, изменение оптической плотности инкубационного раствора, содержащего ТНТС и гомогенат печени, по направлению совпадает (табл. 2, 3) с данными продуцирования активных форм кислорода гомогенатом печени в электролизной ячейке, содержащей 0,1 М раствор оксидоредуктазы (оптическая плотность раствора, содержащего ТНТС в инкубационной среде, увеличивается, величина тока на выходе из электролитической ячейки у животных группы «опыт» возрастает).

Анализируя полученные в эксперименте данные можно сделать обобщение: холодовая нагрузка увеличивает содержание триплетной формы кислорода в

ткани печени экспериментальных животных, увеличивает способность продуцировать активные формы кислорода, введение же неостигмина на фоне кратковременной холодовой нагрузки уменьшает количество триплетного кислорода, но увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода.

Экзогенное введение в ткань печени ацетилхолина *in situ* приводило к увеличению содержания триплетной формы кислорода в гомогенате печени на 5%, при сравнении с данными, полученными от животных группы контроль₂ (табл. 4).

Таблица 4

Содержание триплетной формы кислорода в гомогенате печени после введения ацетилхолина в ткань печени *in situ* в концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М

Показатель	1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата)	3 группа – опыт ₁ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата; ацетилхолин $1,1 \times 10^{-4}$ М)
Триплетная форма кислорода, мкмоль O ₂ /мл гомогената	329,5 [320,8; 336,8]	344,8 [337,9; 354,6] p ₂₋₁ =0,00216	362,2 [355,8; 371,9] p ₃₋₁ =0,00117; p ₃₋₂ >0,05
Количество проб	n=6	n=6	n=6

Необходимо напомнить: накопление эндогенного ацетилхолина в ткани печени, вызываемое введением неостигмина на фоне холодовой нагрузки у лабораторных животных приводило к противоположному эффекту – снижению содержания триплетного кислорода.

Движение по сосудистому руслу печени экзогенного вводимого ацетилхолина увеличивало способ-

ность гомогената печени продуцировать и активные формы кислорода на 11% (табл. 5).

Эта же тенденция отмечалась и при измерении оптической плотности инкубационного раствора, содержащего гомогенат печени и 0,002% раствор ТНТС (табл. 6.)

Таблица 5

Активные формы кислорода в гомогенате печени после введения ацетилхолина в ткань печени *in situ* в концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М

Показатель	1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата)	3 группа – опыт ₁ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата; ацетилхолин $1,1 \times 10^{-4}$ М)
Активные формы кислорода, 10 ⁻⁶ Амп/мл гомогената	6,71 [6,2; 7,1]	7,90 [7,48; 8,3] p ₂₋₁ =0,00394	8,80 [8,4; 9,2] p ₃₋₁ =0,000297; p ₃₋₂ =0,00394
Количество проб	n=6	n=6	n=6

Таблица 6

Изменение оптической плотности тетранитротетразолиевого синего в инкубационной среде после введения ацетилхолина в ткань печени *in situ* в концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М, λ -560 нм

1 группа – контроль ₁ (интактные)	2 группа – контроль ₂ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата)	3 группа – опыт ₁ (0,85% NaCl; 0,15М KCl; 0,05М р-р пирофосфата; ацетилхолин $1,1 \times 10^{-4}$ М)
0,0079 [0,0075; 0,0086]	0,0120 [0,0091; 0,0141] p ₂₋₁ =0,00394	0,0173 [0,0168; 0,0181] p ₃₋₁ =0,001; p ₃₋₂ =0,00395
n=6	n=6	n=6

Таким образом, эндогенное накопление ацетилхолина в ткани печени антихолинэстеразными механизмами, достигавшееся введением неостигмина, приводит к уменьшению содержания триплетной формы кислорода, но увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода. Факт увеличения способности гомогената печени продуцировать активные формы кислорода после введения неостигмина подтверждается увеличением оптической плотности инкубационного раствора,

содержащего ТНТС.

Экзогенное введение в ткань печени ацетилхолина *in situ* сопровождалось не только увеличением способности гомогената печени продуцировать активные формы кислорода, но и увеличением содержания триплетной формы кислорода.

Выводы

1. Кратковременная холодовая нагрузка увеличивает содержание триплетной формы кислорода в ткани

печени животных, увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода. Введение неостигмина (прозерин) увеличивает только способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода, подтверждение этому мы находим и в изменении экстинкции раствора, содержащего тетранитротетразолиевый синий инкубационной среды.

2. Экзогенное введение ацетилхолина в ткань печени в молярной концентрации $1,1 \times 10^{-4}$ М увеличивает содержание триплетной формы кислорода, увеличивает способность гомогената печени продуцировать активные формы кислорода, что подтверждается увеличением восстановления тетранитротетразолиевого синего в инкубационной среде

ЛИТЕРАТУРА

1. Аничков С.В. Избирательное действие медиаторных средств. Л.: Медицина, 1974. 294 с.
2. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика её окислительных систем // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.49–59.
3. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами. М.: Наука, 1982. 256 с.
4. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / под ред. Г.М.Франка. М.: Наука, 1973. 220 с.
5. Изменение продуктов и субстратных составляющих перекисного окисления липидов в ткани печени на фоне холодовой нагрузки и введении непрямым мускариностимуляторов и никотиностимуляторов холинотропных / В.И.Тиханов, Н.А.Лосев, В.А.Доровских, Д.П.Решодько, И.В.Тиханов, Р.А.Анохина, Е.Г.Роговченко // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.50. С.61–67.
6. Сравнение окислительной активности прозерина при кратковременной холодовой нагрузке in vivo и in vitro / В.И.Тиханов, Н.А.Лосев, В.А.Доровских, Д.П.Решодько, И.В.Тиханов, Р.А.Анохина, Е.Г.Роговченко // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып.49. С.77–81.
7. Патент №2348926 РФ. Поляриметрическое устройство для определения содержания молекулярного кислорода в гомогенатах исследуемых тканей и способ его применения / В.И.Тиханов, Д.П.Решодько, О.Н.Варганов; опубл. 10.03.2009.
8. Brawn K., Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases: threat and defense // Acta Physiol. Scand. 1980. Vol.492. P.9–18.
9. Das U.N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology // Biotechnol. J. 2006. Vol.1. №4. P.420–439.
10. Gyermek L. Pharmacology of antimuscarinic agents. CRC Press, 1998. 528 p.
11. Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities / ed. by S.P.Arneric, J.D.Brioni. Wiley-Liss Inc., New York, 1999. 421 p.

12. Porter N.A. Chemistry of lipid peroxidation // Methods Enzymol. 1984. Vol.105. P.273–282.

13. Porter N.A., Caldwell S.E., Mills K.R. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids // Lipids. 1995. Vol.30. P.277–290.

14. Sakac V., Sakac M. Free oxygen radicals and kidney disease // Med. Pregl. 2000. Vol.53, №9–10. P.463–474.

15. Xu Y., Gu Y., Qian S.Y. An advanced Electron Spin Resonance (ESR) spin-trapping and LC/(ESR)/MS technique for the study of lipid peroxidation // Int. J. Mol. Sci. 2012. Vol.13, №11. P.14648–14666.

REFERENCES

1. Anichkov S.V. The selective effect of transmitter medications. Leningrad: Meditsina; 1974 (in russian).
2. Karuzina I.I., Archakov A.I. Isolation of liver microsomal fraction and characteristic of its oxidative systems. In: Orekhovich V.N., editor. Modern methods in biochemistry. Moscow: Meditsina; 1977: 49–59 (in russian).
3. Metelitsa D.I. The reactivation of oxygen by enzyme systems. Moscow: Nauka; 1982 (in russian).
4. Frank G.M., editor. The manual of studying biological acidification by polarographical method. Moscow: Nauka; 1973 (in russian).
5. Tikhanov V.I., Losev N.A., Dorovskikh V.A., Reshod'ko D.P., Tikhanov I.V., Anokhina R.A., Rogovchenko E.G. The change of lipid peroxidation products and substrate components in the liver tissue against the cold exposure under the introduction of indirect muscarin-sensitive and nikotine-sensitive cholinomimetics. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; 50:61–67 (in russian).
6. Tikhanov V.I., Losev N.A., Dorovskikh V.A., Reshod'ko D.P., Tikhanov I.V., Anokhina R.A., Rogovchenko E.G. Comparison of proserin oxidative activity at short cold stress in vivo and in vitro. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2013; 49:77–81 (in russian).
7. Tikhanov V.I., Reshod'ko D.P., Varganov O.N. Patent 2348926 RU. Polarimetric device to identify the concentration of molecular oxygen in the homogenate of tissues under study and the method of its application; published 10.03.2009 (in russian).
8. Brawn K., Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases: threat and defense. *Acta Physiol. Scand.* 1980; 492:9–18.
9. Das, U.N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnol. J.* 2006; 1(4):420–439.
10. Gyermek L. Pharmacology of antimuscarinic agents. CRC Press; 1998.
11. Arneric P., Brioni J.D., editors. Neuronal Nicotinic Receptors. Pharmacology and Therapeutic Opportunities. Wiley-Liss Inc., New York; 1999.
12. Porter N.A. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1984; 105:273–282.
13. Porter N.A., Caldwell S.E., Mills K.R. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 1995; 30:277–290.

14. Sakac V., Sakac M. Free oxygen radicals and kidney disease. *Med. Pregl.* 2000; 53(9-10):463–474.
15. Xu Y., Gu Y., Qian S.Y. An advanced Electron Spin

Resonance (ESR) spin-trapping and LC/(ESR)/MS technique for the study of lipid peroxidation. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(11):14648–14666.

Поступила 05.11.2014

Контактная информация

*Виктор Иванович Тиханов,
кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.
E-mail: agma@amur.ru*

Correspondence should be addressed to

*Viktor I. Tikhonov,
MD, PhD, Associate professor of Department of Pharmacology,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: agma@amur.ru*