

12345timus6789@gmail.com

Самедова Анна Владимировна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ д.1, ул. Звездная, Екатеринбург, Россия; тел.: 8(343) 256-00-88; e-mail: sdv@skbkontur.ru

Author affiliation:

Drozdova Lyudmila Ivanovna, D. Sc in Veterinary Medicine, Professor, Honored scientist of Russia, Head of the Department of Anatomy and Physiology of the Ural state agrarian University; h. 42, Karla Libknekhta str., Yekaterinburg city, Russia; phone: 8(343) 291-65-32; e-mail: drozdova43@mail.ru

Timina Lidiya Ivanovna, Candidate for a degree, Researcher of the Branch of FSBI «48 Central research Institute» of the Ministry of Education of the Russian Federation; h. 1, Star str., Ekaterinburg city, Russia; phone: 8(343) 256-00-88; e-mail: 12345timus6789@gmail.com

Samedova Anna Vladimirovna, Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Branch of FSBI «48 Central research Institute» of the Ministry of Education of the Russian Federation; h. 1, Star str., Ekaterinburg city, Russia; phone: 8(343) 256-00-88; e-mail: sdv@skbkontur.ru

УДК 619.0

Кашкин В.А., Шекунова Е.В., Мужикян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ХЛОРИДОМ ЖЕЛЕЗА АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБОЗА НА КРОЛИКАХ

Ключевые слова: артериальный тромбоз, хлорид железа, кролики.

Резюме: Для оценки эффективности препаратов модель артериального тромбоза, вызванного аппликацией хлорида железа (III), широко используется на крысах и мышах, и гораздо реже на кроликах. Показано, что фактор свертывания крови Ха (Фактор Стюарта – Прауэра) кроликов имеет гораздо больше гомологии с фактором Ха человека, чем фактор Ха крыс. Учитывая, что фактор Ха является мишенью многих новых препаратов, в ряде случаев моделирование тромбоза на кроликах является наиболее актуальным для изучения их эффективности, чем использование других видов лабораторных животных. Целью данной работы была оценка целесообразности использования модели артериального тромбоза на кроликах, предложенной Couture L. (2013), с модификациями для изучения эффективности препаратов, обладающих антиагрегантной активностью, при субхроническом введении. Показано, что 10-минутная аппликация хлорида железа (III) в концентрации 20% на поверхность артерии кролика вела к формированию обтурирующих и крупных пристеночных тромбов, которые определялись при гистологическом исследовании спустя 7 дней после формирования патологии. Введение препарата Плавикс®, который обладает антиагрегантной активностью, приводило к формированию морфологических признаков, характерных для благоприятного исхода артериального тромбоза. Предложенный методический подход позволяет использовать различные курсы приема препаратов, не ограничиваясь однократным введением, что может быть ценно при изучении возможного влияния препаратов на процесс тромбообразования в динамике.

Введение

Необходимым этапом для оценки эффективности препаратов-регуляторов функции гемостаза является изучение фармакологической активности *in vivo* с

использованием экспериментальных моделей повышенной адгезии и агрегации тромбоцитов. Основной задачей данного этапа доклинического изучения новых антиагрегантов *in vivo* является оценка их

противотромботической активности. Одной из моделей, используемой в исследованиях эффективности антиагрегантов является экспериментальный тромбоз сосудов артериального русла [1]. В экспериментах часто используется модель артериального тромбоза, вызванного поверхностной аппликацией раствора хлорида железа [2]. Формирование патологии можно проводить на сонной артерии, брюшной аорте или сосудах брыжейки. Принцип метода состоит в том, что поверхностная аппликация хлорида железа (III) на сосуд вызывает в данном месте образование тромбоцитарного тромба. Хлорид железа вызывает мощный оксидативный стресс с формированием свободных радикалов, которые инициируют перекисное окисление липидов и разрушение клеток эндотелия, что в результате, ведет к формированию тромба [2, 3, 4].

Вызванный хлоридом железа артериальный тромбоз это модель, которая хорошо апробирована и часто применяется на крысах и мышах. Существенно реже артериальный тромбоз, индуцированный аппликацией хлорида железа (III), моделируют на кроликах [5]. Вместе с тем показано, что фактор свертывания крови Ха (Фактор Стюарта – Прауэра) кроликов имеет гораздо больше гомологии с фактором Ха человека, чем фактор Ха крыс [6-8], а диаметр артерий позволяет оценить такой важный показатель, как масса тромба [9]. Учитывая, что фактор Ха является мишенью многих новых препаратов, в ряде случаев моделирование тромбоза на кроликах является наиболее целесообразным для оценки их эффективности, чем использование других видов лабораторных животных.

При моделировании артериального тромбоза на кроликах с помощью хлорида железа (III) в основном используют индуктор в концентрации 70% [9, 10]. Однако использование высокой концентрации приводит к формированию обширного тромба и некрозу окружающих тканей, что может сделать затруднительным оценку действия препаратов. В этом смысле использование более низких концентраций индуктора является более предпочтительным. Недавно был предложен подход, при котором для индукции патологии использовался раствор хлорида железа (III) в концентрации 20% [5].

Основным критерием является время наступления окклюзии сосуда, которое определяется по снижению скорости кро-

вотока. Эксперименты проводят на наркотизированных кроликах. Опыты являются «острыми», и по окончании измерений животных эвтаназируют. В качестве еще одного критерия иногда используют массу тромба, которую измеряют, взвешивая участок артерии со сформированным тромбом. Тестируемый препарат при таком подходе вводят непосредственно до начала индукции патологии.

Целью данной работы была оценка целесообразности использования модифицированной модели, предложенной Couture (2013) [5], для изучения эффективности препаратов, обладающих антиагрегантной активностью, при субхроническом (7 дней) введении тестируемых веществ на кроликах. На 8-ой день после эвтаназии для оценки успешности формирования патологии и оценки эффективности лечения было проведено гистологическое исследование артерии и прилежащих тканей в месте формирования тромба.

Материалы и методы исследований

План исследования был рассмотрен и одобрен на заседании биоэтической комиссии ЗАО «НПО «Дом фармации». Эксперименты были выполнены на кроликах самцах (питомник «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Россия). Животных содержали при свободном доступе к очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм и сено), в контролируемых условиях окружающей среды (15-25°C и относительной влажности воздуха 30-70%), световой режим составил 12 часов света и 12 часов темноты.

Индукция артериального тромбоза

Артериальный тромбоз моделировали аппликацией 20% раствора железа (III) на левую сонную артерию кролика по модифицированному методу Couture [5].

Для индукции патологии животное вводили в наркоз (Золетил 100 (2,6 мг/кг) и Ксилазин, 2,6 мг/кг), внутривенно. Затем выделяли левую общую сонную артерию. На участок сонной артерии (0,5 см) накладывалась фильтровальная бумага. На нее наносилось 20 мкл 20% раствора хлорида железа (III). Окружающие ткани при этом изолировались при помощи лабораторной пленки «Parafilm» (рисунки 1 и 2).

Далее фильтровальную бумагу оборачивали вокруг артерии на время аппликации, которое составило 10 минут. После чего фильтровальную бумагу удаляли, операционная рана послойно ушивалась и обрабатывалась антисептиком.



Рис. 1. Наложение на общую сонную артерию фильтровальной бумаги. Окружающие ткани изолированы при помощи лабораторной пленки «Parafilm» (указано стрелками)

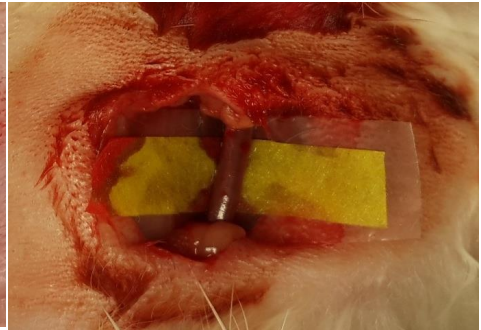


Рис. 2. Нанесение на фильтровальную бумагу 20 мкл хлорида железа (III)

Экспериментальный дизайн

В эксперименте были использованы 10 кроликов. После индукции патологии животные были разделены на две группы: одна получала лечение клопидогрелом (Плавикс®), блокатором пуриновых, P2Y рецепторов тромбоцитов, другая - получала плацебо. Препарат и плацебо вводили внутривенно. Первое введение осуществляли в день индукции патологии, непосредственно после выхода животных из наркоза. Клопидогрел вводили в дозе 2,5 мг/кг. По данным инструкции по применению терапевтическая доза для клопидогрела составляет 75 мг (или 1,07 мг/кг для человека средней массой 70 кг). При перерасчете терапевтическая доза для кролика весом 3000 г составила 2,5 мг/кг. В эксперименте на кроликах было показано, что в данном диапазоне доз клопидогрел эффективно снижал массу тромба ($ED_{50}=6,7$ мг/кг) [11].

Эвтаназия и забор материала

Эвтаназия осуществлялась на 8-й день исследования методом передозировки анестетика, вводимого внутривенно (золетил 100 мг/кг+ксилазин 20 мг/кг). При продольном разрезе по срединной линии шеи осуществляли доступ к сосудистому пучку шеи. Далее вычленялась сонная артерия, вырезался ее участок (2 см проксимальной бифуркации).

Гистологическое исследование

У экспериментальных животных было изучено гистологическое строение сонных артерий на поперечных и продольных срезах. Образцы указанных тканей были вырезаны, обезвожены, пропитаны парафином, нарезаны на срезы, окрашены гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось при помощи светооптической

го микроскопа CarlZeiss при увеличении микроскопа 100. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры AxioScore A1 (Германия).

Критериями оценки служили: наличие тромба, его морфология и исход, патологические и репаративные изменения стенки артерии. Благоприятным исходом после терапии считался асептический аутолиз и организация тромбов, их реканализацию, снижение степени воспаления, фиброза и дегенеративных изменений периваскулярной ткани и стенок сосудов. Степень выраженности признака оценивалась в баллах от 1 до 5:

- Минимальная;
- Незначительная;
- Умеренная;
- Значительная;
- Максимальная;
- «0» При отсутствии признака.
- Статистическая обработка

Для анализа непараметрических данных применяли тест Манна-Уитни, Вилкоксона. Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Статистика 6.0 (StatSoft, USA).

Результаты и обсуждение

Макроскопически у животных группы, не получавшей лечение, в месте аппликации хлорида железа (III) было отмечено изменение цвета артерии, что было обусловлено повреждением артериальной стенки и/или образованием тромба.

С целью изучения строения сосудов и оценки патологических повреждений, гистологическому исследованию были подвергнуты поврежденные (левые) и интакт-

ные (правые) артерии животных. Стенка неповрежденных артерий животных имела правильное гистологическое строение,

была представлена тремя оболочками: внутренней (интимой), средней (медией) и наружной (адвентицией) (рис. 3.).

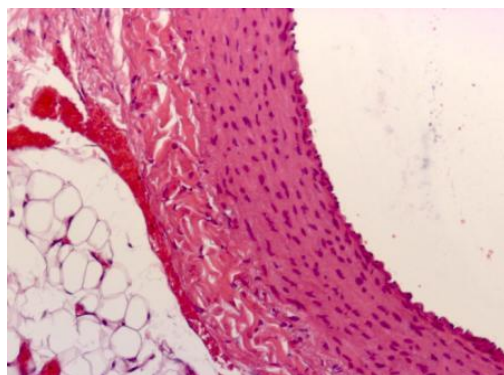


Рис. 3. Срез неповрежденной артерии кролика. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 100

У кроликов группы, не получавшей лечение, обнаруживались существенные изменения стенки левых артерий, проявляющиеся в виде некроза, истончения и расслоения оболочек, особенно, в месте аппликации хлорида железа (III). Эндотелий был поврежден. В периаартериальной ткани также определялись очаги некроза, кровоизлияния, выраженный диффузный воспалительный инфильтрат, представленный, главным образом мононуклеарными клетками. В просвете сосудов обнаруживались обтурирующие и крупные пристеночные тромбы, имеющие характерное слоистое строение, с преобладанием в составе фибрина и эритроцитов, как лизированных, так и в виде пигмента. Фибрин в составе тромба откладывался в виде волокон или образовывал базофильные глыбки.

Имели место гемолиз и сладж эритроцитов. В умеренном количестве выявлялись лейкоциты, особенно в головке тромба. В отдельных случаях отмечалось прорастание соединительной тканью с преобладанием фибробластов и макрофагов.

Стенка сосудов была истончена и замещена в основном фиброзной тканью. Отмечалось незначительное набухание и пролиферация интимы. В периаартериальной ткани обнаруживались явления клеточного отека, сочетание продуктивного воспаления с распадом большей части сегментоядерных нейтрофилов, внутриклеточное накопление бурого-коричневого гемосидерина. Эндотелий сосудов был поврежден, с признаками резко выраженной пролиферации и формирования так называемого «частокола ядер» (рисунки 4 и 5).

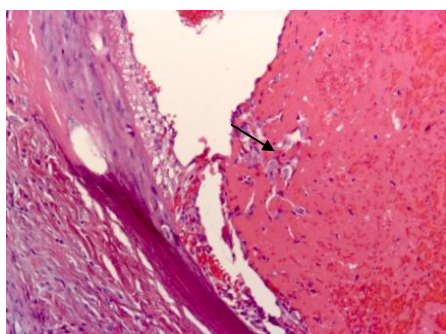


Рис.4. Срез артерии кролика в месте индукции патологии. Выраженные некротические изменения стенки сосуда и периаартериальной ткани. Расслоение стенки сосуда и набухание интимы. В просвете сосуда обтурирующий тромб смешанного строения (стрелка). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 100

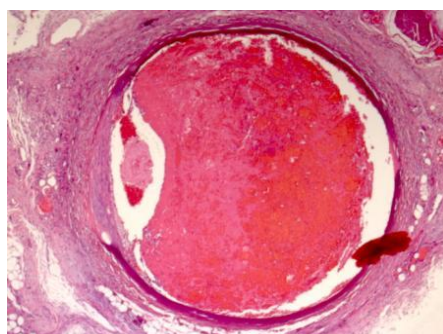


Рис.5. Срез артерии кролика в месте индукции патологии. Выраженные некротические изменения стенки сосуда и периаартериальной ткани. Воспалительная инфильтрация. В просвете сосуда обтурирующий тромб смешанного строения. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 25

В группе, получавшей препарат клопидогрел (Плавикс®), у большинства животных (у четырех из пяти) в разной степени обнаруживались признаки раннего исхода тромба путем асептического расплавления, что не исключает и предупреждение образования тромба. Степень повреж-

дения эндотелия и дегенеративных изменений стенки сосудов в большинстве случаев была ниже, чем в группе контроля. Пропускная способность большинства исследованных артерий была сохранена. Снижалась степень воспаления периадериальной ткани и стенки сосудов (рисунок 6).

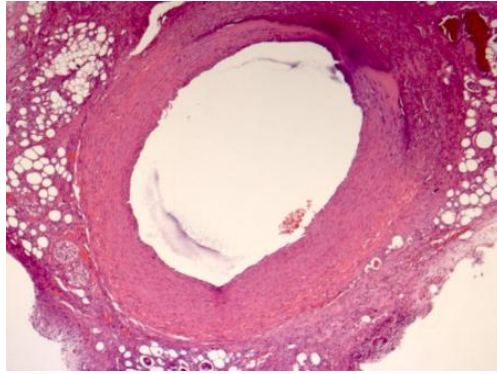


Рис. 6. Срез артерии кролика (Плавикс®, 2,5 мг/кг). Некротические изменения стенки сосуда и периадериальной ткани менее выражены. Воспалительная инфильтрация. При этом отмечается полное аутолитическое расплавление тромба. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 25

Таблица Исходы тромба. В каждой ячейке представлены баллы по каждому животному и сумма баллов ** по группе

Группа	№ животного	Признак		
		Аутолиз	Организация	Реканализация
Контрольная (плацебо)	1	0	0	1
	2	0	1	1
	3	0	0	1
	4	0	0	1
	5	0	1	1
Сумма баллов по группе (плацебо)		0	2	5
Плавикс®, 2,5 мг/кг	6	5	0	0
	7	5	0	0
	8	0	3	4
	9	5	0	0
	10	5	0	0
Сумма баллов по группе (Плавикс®)#		20	3	4

Примечание -

* - аутолиз или предотвращение развития тромба;

** - максимальная сумма баллов по группе по каждому признаку составляет 25 баллов (что соответствует максимально благоприятному исходу тромба);

- достоверные отличия от контрольной группы, тест Манна-Уитни, $p < 0,05$;

В таблице приведены данные полуколичественной оценки (в баллах) степени выраженности патологии. Как видно, в контрольной группе в минимальной степени (до 1 балла) были выражены признаки благоприятного исхода тромба (реканали-

зация, организация), в то время как в группе, получавшей лечение, в 80% случаях тромб не определялся. В одном случае (при наличии тромба) пропускная способность артерии была сохранена, благодаря высокой степени реканализации и организации.

Таким образом, на основании изученного гистологического строения артерий было установлено, что введение препарата клопидогрел (Плавикс®) при анализе эффективности на экспериментальной модели артериального тромбоза у кроликов приводит к формированию морфологических признаков, характерных для благоприятного исхода артериального тромбоза. Они проявляются предупреждением развития тяжелых деструктивных изменений стенок сосудов и формирования тромба и/или частичным и полным аутолитическим расплавлением обтурирующих и пристеночных тромбов.

Как антиагрегант, Клопидогрел (Плавикс®) способствовал раннему исходу тромба (или предотвратил формирование тромба) у 80% животных с моделируемой патологией.

Выводы и заключение

Одним из распространённых методов оценки эффективности препаратов, обладающих антиагрегантной активностью, является модель артериального тромбоза, вызванного поверхностной аппликацией 70% раствора хлорида железа на грызунах. В качестве критерия процесса тромбообразования используют степень снижения скорости кровотока вплоть до полной окклюзии артерии на наркотизированных животных, которых непосредственно после эксперимента подвергают эвтаназии. Такой подход не позволяет оценить влияние препаратов при их длительном применении на процесс тромбообразования. Целью данной работы была оценка целесообразности использования модели артериального тромбоза на кроликах, предложенной Couture (2013) [5], с модификациями, для изучения эффективности препаратов, обладающих антиагрегантной активностью, при субхроническом введении.

Как и в упомянутой выше работе, индуктор наносили в концентрации 20% на фильтровальную бумагу, которую обертывали вокруг артерии так, чтобы индуктор был равномерно распределен по всей окружности сосуда. При этом особое внимание обращалось на стандартизацию данной манипуляции, что крайне необходимо для воспроизводимости модели. Важно, чтобы размер фильтровальной бумаги, количество наносимого индуктора, время аппликации не различались между животными. В проведенном исследовании время ап-

пликации хлорида железа составило 10 минут. Данный параметр был выбран на основании данных литературы, где было показано, что через 10 мин аппликации начинается происходить существенно снижение скорости кровотока, заканчивающееся окклюзией через 20-25 минут [5]. Как показали результаты последующего гистологического исследования, данный временной параметр достаточен для индукции патологии и оценки эффективности препаратов.

У кроликов группы, не получавшей лечение, обнаруживались все признаки формирования тромба. Определялись существенные изменения стенки артерий, проявляющиеся в виде некроза, истончения и расслоения оболочек, особенно в месте аппликации хлорида железа (III), с повреждением эндотелия. В просвете сосудов обнаруживались обтурирующие и крупные пристеночные тромбы, имеющие характерное слоистое строение, с преобладанием в составе фибрина и эритроцитов, как лизированных, так и в виде пигмента. Фибрин в составе тромба откладывался в виде волокон или образовывал базофильные глыбки. Имели место гемолиз и сладж эритроцитов. В умеренном количестве выявлялись лейкоциты, особенно в головке тромба.

Введение референтного препарата клопидогрел (Плавикс®), который обладает антиагрегантной активностью, приводило к формированию морфологических признаков, характерных для благоприятного исхода артериального тромбоза. Терапия клопидогрелом предупреждала развитие тяжелых деструктивных изменений стенок сосудов и формирование тромба, а также, возможно, способствовала аутолитическому расплавлению пристеночных тромбов.

Полученные данные показали, что моделирование артериального тромбоза на кроликах с применением 20% хлорида железа (III) может быть применяться для оценки эффективности препаратов, обладающих антиагрегантной активностью, при их длительном применении. Предложенный методический подход позволяет использовать различные курсы приема препаратов, не ограничиваясь однократным введением, что может быть ценно при изучении возможного влияния препаратов на процесс тромбообразования в динамике.

Библиографический список:

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
2. Kurz K.D. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride / R.D. Kurz, B.W. Main, G.E. Sandusky // *Thromb. Res.* – 1990. – Vol.15. – P. 269-280.
3. Eckly A. Mechanisms underlying FeCl₃-induced arterial thrombosis / A. Eckly, B. Hechler, M. Freund, M. Zerr, J.P. Cazenave, F. Lanza et al. // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2011. – Vol.9. – P. 779-789.
4. Tseng M.T. Transendothelial migration of ferric ion in FeCl₃ injured murine common carotid artery / M.T. Tseng, A. Dozier, B. Haribabu, U.M. Graham // *Thromb. Res.* – 2006. – Vol.118. – P. 275-280.
5. Couture L. Troubleshooting the rabbit ferric chloride-induced arterial model of thrombosis to assess in vivo efficacy of antithrombotic drugs / L. Couture, L.P. Richer, M. Mercier, C. Helie, D. Lehoux, S.M. Hossain // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* – 2013. – Vol.67. – P. 91-97.
6. Furugohri T. DU-176b, a potent and orally active factor Xa inhibitor: in vitro and in vivo pharmacological profiles / T. Furugohri, K. Isobe, Y. Honda, C. Kamisato-Matsumoto, N. Sugiyama, T. Nagahara, Y. Morishima, T. Shibano // *J. ThrombHaemost* – 2008. – Vol.6. – P. 1542-1549.
7. Hara T. Species differences in anticoagulant and anti-Xa activity of DX-9065a, a highly selective factor Xa inhibitor / T. Hara, A. Yokoyama, Y. Morishima, S. Kunitada // *J. Thromb Res.* – 1995. – Vol.80. – P. 99-104.
8. Perzborn E. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939—an oral, direct Factor Xa inhibitor / E. Perzborn, J. Strassburger, A. Wilmen, J. Pohlmann, S. Roehrig, K.H. Schlemmer, A. Straub // *J. ThrombHaemost.* – 2005. – Vol.3. – P. 514-521.
9. Marsh L.E. Assessment of thrombin inhibitor efficacy in a novel rabbit model of simultaneous arterial and venous thrombosis / L.E. Marsh, S.D. Lewis, E.D. Lehman, S.J. Gardell, S.L. Motzel, J.J. Lynch // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 1998. – Vol.79. – P. 656-662.
10. Chi L. In vitro and in vivo antithrombotic activity of PD-198961, a novel synthetic factor Xa Inhibitor / L. Chi, Y.W. Peng, G. Gibson, G. Hicks, T.E. Mertz, S. Rapundalo et al. // *J. of Cardiovascular Pharmacology.* – 2004. – Vol.44. – P. 493-500.
11. Wong P.C. Clopidogrel versus prasugrel in rabbits. Effects on thrombosis, haemostasis, platelet function and response variability / P.C. Wong, E.J. Crain, C.A. Watson, J. Hua, W.A. Schumacher, R. Rehfuess // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2009. – Vol.101. – P. 108-115.

References:

1. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv [Guidelines for Conducting preclinical studies of drugs]. Chast pervaya. – М.: Grif i K, 2012. – 944 s. 2 – 11 Vide supra.

**Kashkin V.A., Shekunova E.V., Muzhikyan A.A., Makarova M.N., Makarov V.G.
THE RABBIT FERRIC CHLORIDE-INDUCED ARTERIAL MODEL OF THROMBOSIS**

Key Words: arterial thrombosis, ferric chloride, rabbits

Abstract: The ferric chloride-induced arterial model of thrombosis is one of the most widely used animal models to assess arterial efficacy of new antithrombotic drug candidates. This model is well-established in rodents but in a less extent in the rabbits. There are evidences in literature that the rabbit factor Xa is more similar to human than the rat one. Since factor Xa is an important target for new antithrombotic compounds in development, it seems reasonable to use rabbits in studies aimed to assess drug efficacy. The aim of this work was to evaluate the usefulness of arterial thrombosis model in rabbits suggested by Couture L. (2013), with modifications, for the study of the effectiveness of antithrombotic drugs via subchronic administration. The application of 20% ferric chloride (III) on the surface of carotid artery during 10 minutes resulted in formation of occlusive and large parietal thrombi, which were determined by histological examination 7 days after the formation of pathology. Administration of widely used antiplatelet drug clopidogrel (Plavix®) (2.5 mg/kg, 7 days), prevented thrombus formation (or induced thrombus autolysis). The rabbit ferric chloride-induced arterial model of thrombosis presented in this paper is sensitive tool for the assessment of new antithrombotic agents with various schedules of drug treatment, not limited to a single administration.

Сведения об авторах:

Кашкин Владимир Александрович, канд. мед. наук, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; д. 6-8, ул. Льва Толстого, Санкт-Петербург, Россия, 197022; тел.: (911) 911-3264, руководитель группы экспериментальной фармакологии Санкт-Петербургского института экспериментальной фармакологии; д. б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия, 188663; тел./факс: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: kashkinv@gmail.com

Шекунова Елена Васильевна, канд. биол. наук, руководитель группы эксперименталь-

ной фармакологии Санкт-Петербургского института Фармации; д. б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия, 188663; тел./факс (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433, старший научный сотрудник Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова; д.б-8, ул. Льва Толстого, Санкт-Петербург, Россия, 197022; e-mail: shekunova@gmail.com

Мужилян Арман Артушович, канд. вет. наук, руководитель группы гистологии и патоморфологии Санкт-Петербургского института фармации; д. б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия, 188663; тел./факс: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: mancho1@yandex.ru

Макарова Марина Николаевна, доктор медицинских наук, заместитель директора по науке Санкт-Петербургского института Фармации; д. б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия, 188663; тел./факс: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: mmn2410@yandex.ru

Макаров Валерий Геннадьевич, доктор медицинских наук, директор Санкт-Петербургского института фармации; д. б/н, корп. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский район, Ленинградская область, Россия, 188663; тел./факс: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: makarov@ipharm.sp.ru

Author affiliation:

Kashkin Vladimir Alexandrovich, Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of St. - Petersburg State Medical University them Acad. I.P. Pavlov; h. 6-8, Leo Tolstoy str., St. – Petersburg city, Russia, 197022; phone: (911) 911-3264, Leader of Experimental Pharmacology Group the St. - Petersburg Institute of the Experimental Pharmacology; unnumbered house, bldg. 245, Kuzmolovsky town, Vsevolozhsk district, Leningrad region, Russia, 188663; phone/fax: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: kashkinv@gmail.com

Shekunova Elena Vasil'evna, Ph. D. in Biology, Head of Experimental Pharmacology Group of the St. Petersburg Institute of Pharmacy; unnumbered house, bldg. 245, Kuzmolovsky town, Vsevolozhsk district, Leningrad region, Russia, 188663; phone/fax: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433, Senior Researcher of St. - Petersburg State Medical University them Acad. I.P. Pavlov; h. 6-8, Leo Tolstoy str., St. – Petersburg city, Russia, 197022; e-mail: shekunova@gmail.com

Muzhikyan Arman Artushovich, Ph. D. in Veterinary Medicine, Head of Histology and Pathomorphology Group the St. - Petersburg Institute of Pharmacy; unnumbered house, bldg. 245, Kuzmolovsky town, Vsevolozhsk district, Leningrad region, Russia, 188663; phone/fax: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: mancho1@yandex.ru

Makarova Marina Nikolaevna, D. Sc in Medicine, Deputy Director of Science, of the St. - Petersburg Institute of Pharmacy; unnumbered house, bldg. 245, Kuzmolovsky town, Vsevolozhsk district, Leningrad region, Russia, 188663; phone/fax: (812) 322-5605, 545-2230, 603-2432, 603-2433; e-mail: mmn2410@yandex.ru

Makarov Valery Gennad'evich, D. Sc in Medicine, Director of the St. - Petersburg Institute of Pharmacy; unnumbered house, bldg. 245, Kuzmolovsky town, Vsevolozhsk district, Leningrad region, Russia, 188663; phone/fax: (812) 322-5605, 545-2230, 603



344068, г. Ростов-на-Дону,

ул.Фурмановская, д.106/43

(863)2926537

www.vetcentr.com