

УДК 613.84:616.151.5

Влияние курения на уровень молекул адгезии клеток сосудов 1 (SVCAM-1), С-реактивного белка и внутриклеточный метаболизм нейтрофилов у здоровых людей

А.Е. Кратнов, И.В. Хабарова, О.Е. Пивень

Государственная медицинская академия, г. Ярославль, ул. Революционная, 5, Россия

Influence smoking cigarettes on level of vascular cell adhesion molecule 1 (SVCAM-1), C-reactive protein and endocellular metabolism of neutrophils at healthy people

A.E. Kratnov, I.V. Habarova, O.E. Piven

State Medical Academy, Yaroslavl, Russia

Аннотация

Изучено влияние курения на содержание в сыворотке крови молекулы адгезии клеток сосудов 1 (sVCAM-1), С-реактивного белка и внутриклеточный метаболизм нейтрофилов у 86 здоровых людей. Выявлено, что курение сопровождается увеличением содержания С-реактивного белка, ростом количества нейтрофилов в периферической крови и изменением их функциональной активности, проявляющейся в праймировании мембранной НАДФ-оксидазы клеток. Увеличение интенсивности курения (индекс курящего человека более 50 пачка-лет) у здоровых людей приводило к повышению уровня sVCAM-1, т.е. развитию эндотелиальной дисфункции, на фоне дальнейшего увеличения количества нейтрофилов в периферической крови и снижения в них активности антиоксидантной защиты (каталазы и глутатионредуктазы).

Ключевые слова

Курение, здоровые люди, молекула адгезии клеток сосудов 1, С-реактивный белок, нейтрофилы.

Несмотря на снижение смертности в Российской Федерации, она продолжает оставаться высокой у людей трудоспособного возраста, из которых более трети умирают от заболеваний системы кровообращения [1]. По данным ВОЗ за 75% сердечно-сосудистой смертности отвечают три модифицируемых фактора риска – ги-

Summary

Influence smoking cigarettes on the contents of vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1), C-reactive protein in serum of blood and endocellular metabolism of neutrophils at 86 healthy people is investigated. It is revealed, that smoking is accompanied increase contents of C- reactive protein, growth quantity of neutrophils in peripheral blood and change of their functional activity shown in priming effect of cells membranous NADPH oxidase. The increase intensity of smoking (index of the smoking person more than 50 packs-years) at healthy people resulted in increase level of sVCAM-1, i.e. development endothelial dysfunction, on background of the further increase quantity of neutrophils in peripheral blood and decrease in them activity of antioxidative protection (catalase and glutathione reductase).

Key words

Smoking cigarettes, healthy people, vascular cell adhesion molecule 1, C-reactive protein, neutrophils.

перхолестеринемия, артериальная гипертензия и курение, из которых два последних в большей степени определяют прогноз фатального исхода в российской популяции [2, 3].

Доказано, что повышенный риск сердечно-сосудистых событий, включая развитие инфаркта миокарда и наступление коронарной смер-

ти у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), связан с дисфункцией эндотелия [4]. Важная роль в эндотелиальной дисфункции при ИБС принадлежит “окислительному стрессу”, развивающемуся вследствие повышенного образования реактивных форм кислорода, одним из источников которых являются нейтрофилы [5, 6]. Несмотря на то, что активное и пассивное курение является фактором эндотелиальной дисфункции у больных ИБС и здоровых людей, точный механизм ее развития неизвестен [7, 8]. Полагается, что одним из механизмов дисфункции эндотелия у курильщиков может быть избыточная продукция кислородных радикалов, разрушающих как эндотелийзависимый релаксирующий фактор – оксид азота, так и его кофактор – тетрагидробиптерин [9].

Целью настоящего исследования было изучение влияния курения на уровень молекулы адгезии клеток сосудов 1, С-реактивного белка и внутриклеточный метаболизм нейтрофилов (НФ) у здоровых людей.

Материал и методы

В исследование было включено 98 здоровых людей (средний возраст $39,6 \pm 11,3$ года), госпитализированных в кардиологическое отделение Дорожной клинической больницы на станции Ярославль ОАО “РЖД” для профессионального осмотра согласно приказу № 796 с целью выявления противопоказаний для осуществления работ, связанных с движением поездов и маневровой работой. Для исключения ИБС пациентам выполнялась электрокардиография (ЭКГ), велоэргометрия, холтеровское мониторирование ЭКГ, эхокардиография.

Среди обследованных людей курильщиками являлись 86 (87,8%) человек. На момент исследования курили 66 (67,4%) пациентов, стаж курения составлял 23,4 (min – 2, max – 43) года, интенсивность курения – 21,2 (min – 3, max – 80) сигареты в сутки. Среди обследованных 12 (12,2%) человек никогда не курили, 20 (20,4%) пациентов отказались от вредной привычки в среднем 102,3 (min – 1, max – 336) недели назад. С целью изучения интенсивности курения рассчитывался индекс курящего человека (число выкуренных сигарет в сутки умноженное на стаж курения в годах, деленное на 20), выражаемый числом пачка-лет. В зависимости от интенсивности курения было выделено две группы: одна с индексом курящего человека менее 50 пачка-лет, состоявшая из

59 (89,4%) человек, вторая с индексом более 50 пачка-лет, включавшая 7 (10,6%) пациентов.

Содержание растворимой формы молекулы адгезии клеток сосудов 1 и С-реактивного белка в сыворотке крови изучали методом иммуноферментного анализа с использованием наборов для количественного определения ЗАО “БиохимМак” (Москва). НФ выделяли из периферической крови, взятой натощак утром с 8 до 9 ч, в двойном градиенте плотности фикола-верографина 1,077 и 1,092 г/мл. Для исследования брали клетки второй интерфазы, которую НФ составляли на 95%. Количество НФ в клеточной суспензии подсчитывали в камере Горяева с использованием прижизненной окраски раствором метиленового синего в 3% уксусной кислоте (краска Тюрка) для определения жизнеспособных клеток. Жизнеспособность фагоцитов, оцениваемая по трипановому тесту, составляла более 90%. С целью изучения активности мембранной НАДФ-оксидазы и образования фагоцитами супероксидного анион-радикала использовался спонтанный и стимулированный тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), который проводили количественным спектрофотометрическим методом по Т.А. Gentle и R.A. Thompson (1990) с использованием 0,2% раствора нитросинего тетразолия [10]. Индуктором кислородзависимого метаболизма нейтрофилов служил фитогемагглютинин из бобов фасоли (*Phaseolus vulgaris*) (“ПанЭко”, США), который добавляли в пробирки с нейтрофилами в количестве 200 мкл. Определение пероксида водорода в НФ проводилось количественным спектрофотометрическим методом с использованием 0,2% раствора фенолового красного [11]. Уровень миелопероксидазы в фагоцитах оценивали количественным спектрофотометрическим методом с использованием 0,04% раствора ортофенилендиамина [12]. Определение активности каталазы в НФ основывалось на способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [13]. Активность глутатионредуктазы в лизате НФ определяли спектрофотометрическим методом по степени окисления НАДФ·Н [14]. Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли по методу A. Digean и B. Mayer в модификации В. Гашковой и соавторов [15].

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета программ STATISTICA 5.5. Для сравнения средних непрерывных величин с нормальным распределением применялся

групповой *t*-тест, с неправильным распределением – непараметрический критерий Манна-Уитни. Данные исследований представлены в виде их средних значений и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У здоровых людей, курящих на момент исследования, выявлялось достоверно более высокое количество НФ в периферической крови по сравнению с показателями никогда не куривших ($61 \pm 6,9 > 57,4 \pm 6,6$ %; $p = 0,04$) и отказавшихся от вредной привычки ($61 \pm 6,9 > 56,6 \pm 6,8$ %; $p = 0,01$). При этом у курящих на момент исследования, а также у куривших в прошлом людей, наблюдалось достоверно более высокая активность кислородзависимого метаболизма НФ по данным стимулированного НСТ-теста (табл. 1). Увеличение НСТ-теста по данным стимулированных лектином показателей при отсутствии достоверных различий в спонтанных значениях предполагает нарушения рецепторной активности НФ у курящих людей. Подобные изменения активности фагоцитов были выявлены у больных ИБС. Предполагается, что при ИБС нарушаются механизмы рецепции или трансмембранной передачи стимула вследствие появления дефектов гликопротеидных рецепторных детерминант на поверхности плазматической мембраны НФ [16]. Из биомаркеров, свидетельствующих о внутрисосудистом воспалении, в насто-

ящем исследовании обнаружено повышение уровня С-реактивного белка у курящих и бывших курильщиков ($2,3 \pm 2,4$ и $2,4 \pm 1,4 > 1,8 \pm 0,6$ мг/л), по сравнению с людьми никогда не курившими.

У людей с высокой интенсивностью курения (индекс курящего человека более 50 пачка-лет) наблюдалось достоверно более высокое содержание НФ в периферической крови ($68 \pm 8,3 > 60,1 \pm 6,4$ %; $p = 0,004$), сопровождающееся снижением активности их метаболизма, преимущественно ферментов антиоксидантной защиты – каталазы ($652,6 \pm 245,3 < 838,4 \pm 278,6$ мкат/л; $p = 0,06$) и глутатионредуктазы ($45,5 \pm 17,9 < 74,8 \pm 50,9$ нмоль \cdot л $^{-1}\cdot$ сек $^{-1}$; $p = 0,09$). Снижение потенциала антиоксидантной защиты НФ при увеличении интенсивности курения ассоциировалось с достоверным ростом уровня sVCAM-1, т.е. развитием дисфункции эндотелия (табл. 2).

Считается доказанным, что в условиях гипоксии или длительного воздействия различных повреждающих факторов (воспаление, интоксикация) преимущественным ответом эндотелиальных клеток даже на обычные стимулы становятся вазоконстрикция и пролиферация [17]. Процесс повреждения или гибели эндотелиальных клеток, при котором обнажается субэндотелий с большим количеством коллагена, реализуется при участии мультимерного гликопротеина – фактора фон Виллебранда, усиление синтеза и высвобождение которого из эндотелия происходит при участии “окислительного стресса”, фактора некроза опухоли α , иммуноглобулина

Таблица 1

Показатели метаболизма нейтрофилов, содержание sVCAM-1, С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов в зависимости от факта курения

Показатель	I. Никогда не курили (n = 12)	II. Не курят на момент исследования (n = 20)	III. Курят на момент исследования (n = 66)
Спонтанный НСТ-тест, нмоль	84,4 \pm 30,7	96 \pm 27,4	91,7 \pm 34,2
Стимулированный НСТ-тест, нмоль	88 \pm 22,2	107 \pm 26,1*	107,1 \pm 38,1**
Пероксид водорода, ед. опт. пл.	0,3 \pm 0,3	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1
Миелопероксидаза, ед. акт. Sigma	13,7 \pm 4,3	13,9 \pm 3,8	15,5 \pm 4,8
Каталаза, мкат/л	663,5 \pm 350,7	773,8 \pm 215,6	822,9 \pm 277,5
Глутатионредуктаза, нмоль \cdot л $^{-1}\cdot$ сек $^{-1}$	59,1 \pm 25,8	66,2 \pm 26,9	72,3 \pm 49,5
sVCAM-1, нг/мл	1269,3 \pm 357,1	1124,4 \pm 493,4	1157,5 \pm 520,4
С-реактивный белок, мг/л	1,8 \pm 0,6	2,4 \pm 1,4	2,3 \pm 2,4
ЦИК, ед. опт. пл.	87,5 \pm 32,5	97 \pm 26,7	88,4 \pm 41,2

Примечание. Звездочки – различия достоверны – $p < 0,05$ (одна – между I и II, две – между I и III группами).

Таблица 2

Показатели метаболизма нейтрофилов, содержание sVCAM-1, С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов в зависимости от индекса курящего человека

Показатель	Индекс курящего человека менее 50 (n = 59)	Индекс курящего человека более 50 (n = 7)	p
Спонтанный НСТ-тест, нмоль	93,9±34,5	73±27,5	нд
Стимулированный НСТ-тест, нмоль	109,8±38,3	84,6±28,8	нд
Пероксид водорода, ед. опт. пл.	0,2±0,1	0,1±0,09	нд
Миелопероксидаза, ед. акт. Sigma	15,6±4,6	14,6±6,1	нд
Каталаза, мкат/л	838,4±278,6	652,6±245,3	нд
Глутатионредуктаза, нмоль•л ⁻¹ •сек ⁻¹	74,8±50,9	45,5±17,9	нд
sVCAM-1, нг/мл	1123,3±506,5	1683,2±124,8	0,04
С-реактивный белок, мг/л	2,2±2,4	1,6±0,1	нд
ЦИК, ед. опт. пл.	89,1±41,2	82,8±44,2	нд

G, циркулирующих иммунных комплексов, мембраноатакующего комплекса комплемента [18]. Большинство факторов риска атеросклероза, включая гиперхолестеринемия, артериальную гипертензию, курение и сахарный диабет 2 типа, связаны с эндотелиальной дисфункцией, которая считается ранним маркером заболевания [19]. Показано, что интенсивное курение (более 20 сигарет в сутки), сопровождающееся увеличением смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции, приводит к достоверному росту уровня фактора фон Виллебранда [20, 21]. Выявлено, что никотин изменяет выражение множества эндотелиальных генов, продукты которых (синтаза оксида азота, ангиотензин-1, активатор профибринолизина, фактор фон Виллебранда, VCAM-1) играют важную роль в регуляции сосудистого тонуса и тромбогенеза в коронарной артерии [22]. Никотин также модулирует в эндотелиальных клетках ген ядерного фактора транскрипции каппа В (NF-kb), контролирующего синтез провоспалительных цитокинов, экспрессию адгезивных молекул (VCAM-1) и хемоаттрактантов фагоцитов [23, 24]. Экспрессия NF-kb в свою очередь сопряжена с гиперпродукцией фагоцитами активных форм кислорода, преимущественно гидроксил-радикала [25]. По мнению В. Beutel и соавт. [26] НФ вовлечены в процесс цитокин-опосредованного межклеточного взаимодействия, при котором совокупность образуемых ими активных форм кислорода через экспрессию NF-kb и AP₁-зависимую транскрипцию ведёт к индукции выработки провоспалитель-

ных цитокинов, которые в свою очередь праймируют фагоцитарную НАДФ-оксидазу. Следовательно, модулируя ген NF-kb в эндотелиальных клетках, никотин способен активировать выработку в НФ кислородных радикалов, усиливающих воспаление. Обнаружено, что растворимые в воде компоненты папиросного дыма приводят к нарушению расслабления каротидных артерий, увеличению производства пероксида водорода и активации НАДФ-оксидазы у здоровых крыс [27]. При этом существуют доказательства активации НАДФ-оксидазы фагоцитов, играющей основную роль в производстве клетками супероксидного анион-радикала, в развитии атеросклероза [28]. В данном исследовании показано, что курение у здоровых лиц приводит к увеличению количества НФ в периферической крови и активации их мембранной НАДФ-оксидазы по данным стимулированного НСТ-теста, что свидетельствует о праймировании или усилении реактивности клеток. Известно, что кроме явной активации, фагоциты подвергаются скрытой переадаптации (кондиционированию), которая связана с реактивными сдвигами на рецепторном и пострецепторном уровнях и меняет чувствительность клеток к вторичным стимулам. Праймирование фагоцитов, повышающее их гемостатический потенциал, выявлено у больных с инфарктом миокарда [29].

У обследованных здоровых лиц интенсивное курение (индекс курящего человека более 50 пачка-лет) на фоне роста уровня sVCAM-1 также приводило к угнетению антиоксидантной защиты в НФ, т.е. предрасполагало к развитию

“окислительного стресса”. На сегодняшний день доказано, что курение сопровождается “окислительным стрессом”, который проявляется активацией процесса перекисного окисления липидов – увеличением содержания в крови окисленных липопротеинов низкой плотности и снижением фермента параоксоназы, защищающей липопротеины от окислительной модификации [30, 31]. Выкуривание даже одной сигареты здоровым человеком резко увеличивало концентрацию окисленных фосфолипидов (фрагментированного фосфатидилхолина) на фоне роста количества в крови циркулирующих НФ [32]. Показано, что развитие “окислительного стресса” происходит на фоне депрессии антиоксидантной защиты – снижения содержания в эритроцитах и сыворотке крови супероксиддисмутазы и каталазы, причем как у активных, так и пассивных курильщиков [33, 34]. При этом у ку-

рильщиков молодого возраста (18-45 лет) показатели антиоксидантной защиты (глутатионпероксидазы) были выше, чем в старших возрастных группах (46-80 лет), что свидетельствует о снижении с возрастом адаптационных возможностей в противодействии “окислительному стрессу” [35].

Заключение

Курение у здоровых людей приводит к росту содержания С-реактивного белка и увеличению в крови количества циркулирующих НФ, которое сопровождается праймированием их мембранной НАДФ-оксидазы. Интенсивное курение (индекс курящего человека более 50 пачка-лет) ассоциируется с дальнейшим увеличением количества НФ в периферической крови, угнетением их антиоксидантной защиты и развитием эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствует рост содержания sVCAM-1 в сыворотке крови.

Литература

1. Токманцева И. Значение “скорой” трудно переоценить. Медицинский вестник 2007; 36: 5.
2. World Health Organization. The World Health Report 2002: Reducing risks, Promoting healthy life. Geneva: World Health Organization, 2002.
3. Шальнова С.А., Деев А.Д., Оганов Р.Г. Факторы, влияющие на смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2005; 4: 4-9.
4. Schachinger V, Britten M.B., Zeiher A.M. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. Circulation 2000; 101: 1899-1906.
5. Valgimigli M., Merli E., Malagutti P. et al. Endothelial dysfunction in acute and chronic coronary syndromes: evidence for a pathogenetic role of oxidative stress. Arch. Biochem. Biophys. 2003; 420: 255-261.
6. Маянский Д.Н., Маянская С.Д. Роль нейтрофилов в ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда. Кардиология 2001; 12: 84-88.
7. Pepine C.J., Schlaifer J.D., Mancini G.B. et al. Influence of smoking status on progression of endothelial dysfunction. TREND Investigators. Trial on Reversing Endothelial Dysfunction. Clin. Cardiol. 1998; 21: 331-334.
8. Otsuka R., Watanabe H., Hirata K. et al. Acute effects of passive smoking on the coronary circulation in healthy young adults. JAMA 2001; 286: 436-441.
9. Meinertz T., Heitzer T. Primary and secondary prevention of coronary heart disease: smoking. Z. Kardiol. 2002; 91: 3-11.
10. Gentle T.A., Thompson R.A. Neutrophil function tests in clinical immunology. Clinical Immunology. A practical approach. Gooi H.G., Chapel H. (eds.). Oxford University Press. New York. 1990: 57-59.
11. Pick A., Keisari Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages. Cellular Immunol. 1981; 59: 301-308.
12. Саидов М.З., Пинегин Б.В. Спектрофотометрический способ определения активности миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках. Лабораторное дело 1991; 3: 56-59.
13. Мамонтова Н.С., Белобородова Э.И., Тюкалова Л.И. Активность каталазы при хроническом алкоголизме. Клиническая лабораторная диагностика 1994; 1: 27-28.
14. Кратнов А.Е., Потапов П.П., Власова А.В., Углов Е.С., Сухоруков В.С. Активность глутатионредуктазы в нейтрофилах у больных муковисцидозом. Клиническая лабораторная диагностика 2005; 2: 33-37.
15. Гашкова В., Матл И., Кашлик И. Циркулирующие комплексы у больных иммунокомплексными заболеваниями и после трансплантации почек. Чех. Мед. 1978; 2: 117-122.
16. Кипшидзе Н.Н., Хомерики С.Г., Кубатиев А.А. и др. Лектининдуцированная хемилюминесценция нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных ишемической болезнью сердца до и после облучения крови гелий-неоновым лазером. Кардиология 1992; 1: 53-56.
17. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента. Кардиология 2001; 5: 100-104.
18. Pottinger B.E., Read R.S., Paleolog E.M. Von Willebrand factor in an acute phase reactant in man. Thromb. Res. 1989; 53: 387-394.
19. Simon B.C., Noll B., Maisch B. Endothelial dysfunction – assessment of current status and approaches to therapy. Herz. 1999; 24: 62-71.
20. Оганов Р.Г., Деев А.Д., Жуковский Г.С., Шальнова С.А. Влияние курения на смертность от хронических неинфекционных заболеваний по результатам проспективного исследования. Профил. забол. укреп. здор. 1998; 3: 13-15.
21. Kumari M., Marmot M., Brunner E. Social determinants of von willebrand factor: the Whitehall II study. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2000; 20: 1842-1847.

22. Zhang S., Day I., Ye S. Nicotine induced changes in gene expression by human coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis* 2001; 154: 277-83.
23. Zhang S., Day I., Ye S. Microarray analysis of nicotine-induced changes in gene expression in endothelial cells. *Physiol. Genomics* 2001; 5: 187-192.
24. Borregaard N. The human neutrophil function and dysfunction. *Eur. J. Haematol.* 1988; 41: 401-406.
25. Schreck R., Albermann K.A., Baeuerle P.A. Nuclear factor kB: an oxidative stress-responsive transcription factor of eucariotic cells (a review). *Free Rad. Res. Comm.* 1992; 17: 221-237.
26. Beutel B., Cerami A. The biology of cachectin/TNF: a primary mediator of the host response. *Ann. Rev. Immunol.* 1989; 7: 625-655.
27. Orosz Z., Csiszar A., Labinsky N. et al. Cigarette smoke-induced proinflammatory alterations in the endothelial phenotype: role of NAD(P)H oxidase activation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007; 292: H130-H139.
28. Zalba G, Beloqui O, San José G. et al. NADPH Oxidase-Dependent Superoxide Production Is Associated With Carotid Intima-Media Thickness in Subjects Free of Clinical Atherosclerotic Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005; 25: 1452.
29. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань: Магариф 1993; 177.
30. Drexler H., Hornig B. Endothelial dysfunction in human disease. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31: 51-60.
31. James R.W., Leviev I., Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 101: 2252-2257.
32. Frey B., Haupt R., Alms S. et al. Increase in fragmented phosphatidylcholine in blood plasma by oxidative stress. *J. Lipid Res.* 2000; 41: 1145-1153.
33. Sharma S.B., Dwivedi S., Kumar N. et al. Studies on oxidative stress, serum iron and iron binding capacity in subjects prone to the risk of coronary artery disease. *Indian Heart J.* 2000; 52: 583-586.
34. Yildiz L., Kayaoglu N., Aksoy H. The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002; 40: 612-615.
35. Hulea S.A., Olinescu R., Nita S. et al. Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stress: a case-control study. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 1995; 14: 173-180.

Сведения об авторах:

1. Кратнов Андрей Евгеньевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии педиатрического факультета

Государственная медицинская академия
Россия, 150000, г. Ярославль, ул.
Революционная, д. 5

Телефон (0852) 79-29-05, E-mail:
kratnov@mail.ru

Kratnov A.E.

State Medical Academy, 5 Revolutsionnaya ul.,
Yaroslavl 150000, Russia

2. Хабарова Ирина Валерьевна, аспирант кафедры терапии педиатрического факультета

Государственная медицинская академия
Россия, 150000, г. Ярославль, ул.
Революционная, д. 5

Телефон (0852) 79-29-05, E-mail:
m.khabarova@mail.ru

Khabarova I.V.

State Medical Academy, 5 Revolutsionnaya ul.,
Yaroslavl 150000, Russia

3. Пивень Ольга Евгеньевна, аспирант кафедры терапии педиатрического факультета

Государственная медицинская академия
Россия, 150000, г. Ярославль, ул.
Революционная, д. 5

Телефон (085) 42-70-50, E-mail:
sergeevaolga27@mail.ru

Поступила 18.11.09 г.