

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА И ДЕАНОЛА АЦЕГЛУМАТА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ВЕНОЗНОЙ КРОВИ И ГЕМОПОЭЗ КРОЛИКОВ

Аннотация. Изложены результаты исследования влияния деанола ацеглумата на лейкоцитарный состав венозной крови и лейкопоз кроликов, применяемого на фоне моделирования курса противоопухолевой терапии циклофосфаном. Показано, что применение деанола ацеглумата в данном режиме введения уменьшает последствия токсического влияния циклофосфана на лейкопоз. Однако поддержание клеточного состава крови сопровождается напряжением кроветворения и торможением пролиферативных и дифференцировочных процессов в гранулоцитарном пуле кроветворного костного мозга.

Ключевые слова: онкология, циклофосфан, деанола ацеглумат, костный мозг.

Abstract. Results of research of influence deanola aceglumate on leukocytic structure of venous blood and leukopoiesis the rabbits, a course of antineoplastic therapy applied against modelling cyclophosphamide are stated. It is shown, that application deanola aceglumate in the given mode of introduction reduces consequences of toxic influence cyclophosphamide on leukopoies. However maintenance of cellular structure of blood is accompanied by tension hematoses and braking proliferative and differentiation processes in granulocytic to a pool hematopoietic a bone brain.

Keywords: oncology, cyclophosphamide, deanola aceglumate, antioxidant, spongy bone.

Распространенность онкологических заболеваний в России возрастает [1, 2]. Один из основных методов лечения злокачественных новообразований – химиотерапия – ограничивается серьезными побочными эффектами [3, 4], особое место среди которых занимает депрессия кроветворения. Проявлением последней являются лейкопения, нейтропения, анемия различной степени выраженности [5–7]. Вопросы профилактики развития гипо- и апластического состояний гемопоэза и вывода из них являются сегодня достаточно актуальными, несмотря на значительные научные достижения в области гематологии и изучения регуляции механизмов пролиферации стволовых кроветворных клеток [8, 9]. В литературе имеются данные об эффективном применении лекарственных средств, обладающих ноотропными свойствами, применение которых усиливает пролиферацию миелокариоцитов, возможно, за счет центральных нейроэндокринных механизмов регуляции гемопоэза [10]. Результаты многочисленных исследований показывают, что система перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты выступает мишенью действия цитостатической терапии. В этой связи применение антиоксидантов в процессе цитостатической терапии необходимо для снижения активности процессов свободнорадикального окисления [11]. Соединение деанола ацеглумата близко к естественным метаболитам мозга – гамма-аминомасляной и глутаминовой кислотам, обладает церебропротективной активностью с отчетливым ноотропным, психостимулирующим и психогармонизирующим действием, к тому же препарат обладает гепатопротекторными свойствами

[12–15]; в ряде работ отмечено корректирующее влияние деанола ацеглумата на процессы перекисного окисления липидов [16]. Учитывая все вышеперечисленное, мы решили исследовать влияние деанола ацеглумата на процессы гемопоэза при цитостатическом повреждении.

Цель работы: изучить влияние деанола ацеглумата на лейкоцитарный состав периферической крови и лейкопоэз кроликов при циклофосфановой депрессии кроветворения.

Материалы и методы исследования

Для проведения экспериментов использовались следующие фармакологические препараты:

– Циклофосфан – N'-бис-(β-Хлорэтил)-N'-О-триметиленовый эфир диамида фосфорной кислоты – противоопухолевый цитостатический препарат. Использовался для моделирования курса противоопухолевой терапии. В экспериментальной части использовался препарат (порошок по 0,1 г во флаконе), изготовленный ОАО «Биохимик», Саранск (Россия).

Деанола ацеглумат – соль N-ацетил-L-глутаминовой кислоты с 2-диметиламиноэтанолом, соединение создано специалистами Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (ГУП ВНИЦ БАВ) под руководством д.х.н., профессора С. Я. Скачиловой. В эксперименте использовался 20 % водный раствор для внутривенного введения.

Эксперименты были выполнены на половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла массой 3,0–3,5 кг. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме на стандартной диете, свободном доступе к воде и пище, в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страстбург, 1986).

Животные I (контрольной) серии ($n = 10$) получали курс циклофосфана в дозе 20 мг/кг (1/10 ЛД₅₀) (курсовая доза 100 мг/кг), предварительно препарат разводили стерильной водой для инъекций, инфузию осуществляли в краевую ушную вену 1 раз в день, через день, всего 5 инъекций. Животным II серии ($n = 10$) курс циклофосфана дополняли одновременным внутривенным введением деанола ацеглумата в дозе 1 % от LD₅₀ – 120 мг/кг 1 раз в день, вливания проводили через день в течение четырех недель. Десяти кроликам (интактная группа $n = 10$) при тех же условиях вводили 0,9 % раствор хлорида натрия.

До начала эксперимента, на 8-е, 15-е, 22-е и 29-е сутки в периферической крови определяли: абсолютное число лейкоцитов, лейкоцитарную формулу венозной крови с расчетом индекса ядерного сдвига по унифицированным методикам. Для гематологического анализа кровь брали из ушной краевой вены.

Для исследования костного мозга до начала эксперимента, на 8-е, 15-е, 22-е и 29-е сутки проводили пункцию подвздошной кости под местным обезболиванием раствором новокаина 2 % – 2,0 мл при помощи асептической аспирации иглой Кассирского и шприцем (обезвоженными). Из части полученного пунктата быстро готовили мазки, другую часть разводили для подсчета миелокариоцитов и мегакариоцитов. Производили цитологический анализ мазков пунктата.

В костном мозге определяли абсолютное число миелокариоцитов, абсолютное и относительное количество бластов, промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, а также абсолютное и относительное количество клеток в состоянии митотического деления. Рассчитывали индексы созревания нейтрофилов (Меньшиков В. В., 1987).

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с помощью пакета статистических программ: русифицированная версия программы STATISTICA (StatSoft – Russia, 1999), BIOSTAT (S. A. Glantz, McGraw Hill, перевод на русский язык – «Практика», 1998). Результаты представлены в виде средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). Проверка нормальности распределения проводилась по критерию Шапиро-Уилка. Для оценки достоверности различий независимых переменных между группами использовали t -критерий Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, для оценки достоверности различий между независимыми переменными использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ от уровня показателей интактной серии, $p_k < 0,05$ от уровня показателей контрольной серии.

Результаты исследования и их обсуждение

После применения циклофосфана в крови животных с 15-х суток развивалась лейкопения со снижением общего количества лейкоцитов в периферической крови от $5,69 \pm 0,05 \cdot 10^3/\text{мкл}$ до $0,60 \pm 0,03 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,001$) на 29-е сутки наблюдения. Деанола ацеглумат в целом успешно предупреждал развитие цитостатической лейкопении. Преходящее снижение количества лейкоцитов на 32 % ($p < 0,05$) отмечалось на 22-й день, а в конце эксперимента показатель был полностью восстановлен ($p > 0,05$). В контрольной серии лейкопения возникала в этот же период наблюдения, но к концу эксперимента отмечалась глубокая лейкопения (рис. 1).

На фоне сочетанного применения циклофосфана и деанола ацеглумата имело место омоложение нейтрофильного состава с развитием регенераторного ядерного сдвига – на 15-е сутки опыта в венозной крови были обнаружены миелоциты в количестве до $115,00 \pm 13,00/\text{мкл}$ ($p < 0,001$), метамиелоциты присутствовали в пробах на 15-й день наблюдения до $147,00 \pm 20,00/\text{мкл}$ ($p < 0,001$), их численность варьировала до $38,00 \pm 10,00/\text{мкл}$ на 22-е сутки и $68,00 \pm 20,00/\text{мкл}$ на 29-е. Относительное количество молодых клеток в лейкоцитарной формуле было не более 1–2 %. В контрольной серии юные клетки наблюдались с восьмых суток, а количество метамиелоцитов превышало в 3 раза ($p < 0,001$).

Уровень палочкоядерных нейтрофилов через 8 и 15 дней от начала вливаний цитостатика в комплексе с деанола ацеглуматом сначала повысился от $0,28 \pm 0,02 \cdot 10^3/\text{мкл}$ до $0,40 \pm 0,02 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,01$) и $0,44 \pm 0,02 \cdot 10^3/\text{мкл}$ соответственно ($p < 0,001$), спустя еще неделю стал равен исходной величине ($p > 0,05$), а в конце эксперимента наблюдалось повторное повышение до $0,46 \pm 0,06 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,01$). Относительное содержание данных клеток было в 1,5–2 раза выше исходной величины на протяжении всего периода наблюдения. Увеличение абсолютного количества палочкоядерных нейтрофилов было характерно и для показателей контрольной серии.

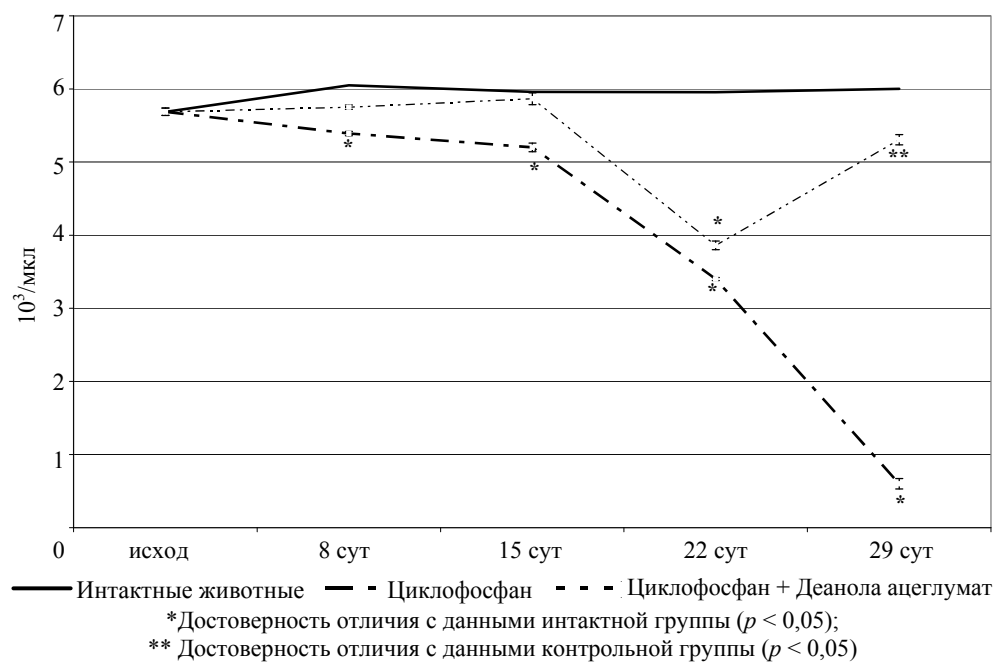


Рис. 1 Динамика уровня лейкоцитов крови кроликов на фоне введения циклофосфана и сочетанного введения циклофосфана и деанола ацеглумата

Деанола ацеглумат полностью устранял индуцированные циклофосфаном потери сегментоядерных нейтрофилов. Их абсолютное и относительное количество не изменялось на протяжении всего опыта ($p > 0,05$). У контрольных животных развивался статистически значимый дефицит сегментоядерных нейтрофилов с восьмого дня наблюдения ($p < 0,001$).

При комплексном использовании циклофосфана и деанола ацеглумата отмечались признаки омоложения нейтрофильных гранулоцитов крови менее выраженные, чем в контрольной серии ($p_k < 0,001$) (рис. 2).

Применение деанола ацеглумата предотвращало развитие эозинопении, вызванной циклофосфаном, в первой половине опыта, с 22-х суток наблюдалось пятикратное снижение показателя до $0,04 \pm 0,01 \cdot 10^3/\text{мкл}$ (у интактных животных $0,17 \pm 0,01 \cdot 10^3/\text{мкл}$) ($p < 0,001$), к концу эксперимента абсолютное количество эозинофилов составляло $32,00 \pm 2,00/\text{мкл}$ ($p < 0,001$), в контрольной серии в этот период эозинофилы не определялись. Относительное содержание показателя имело аналогичную динамику.

При сочетанном использовании цитостатика и деанола ацеглумата среди моноцитов и лимфоцитов венозной крови статистически значимых количественных нарушений выявлено не было. У животных, не получавших корректирующего лечения, в последние две недели отмечался выраженный дефицит лимфоцитов.

На фоне курса вливаний циклофосфана и деанола ацеглумата общее количество костномозговых миелокариоцитов в костном мозге до 29-го дня наблюдения не изменялось. При завершающем исследовании было отмечено уменьшение клеточности костного мозга на 78 % ($p < 0,001$). У животных, не получавших корректирующего лечения, общий объем клеточной массы сокращался с каждой неделей до выраженной гипоплазии костного мозга в конце опыта.

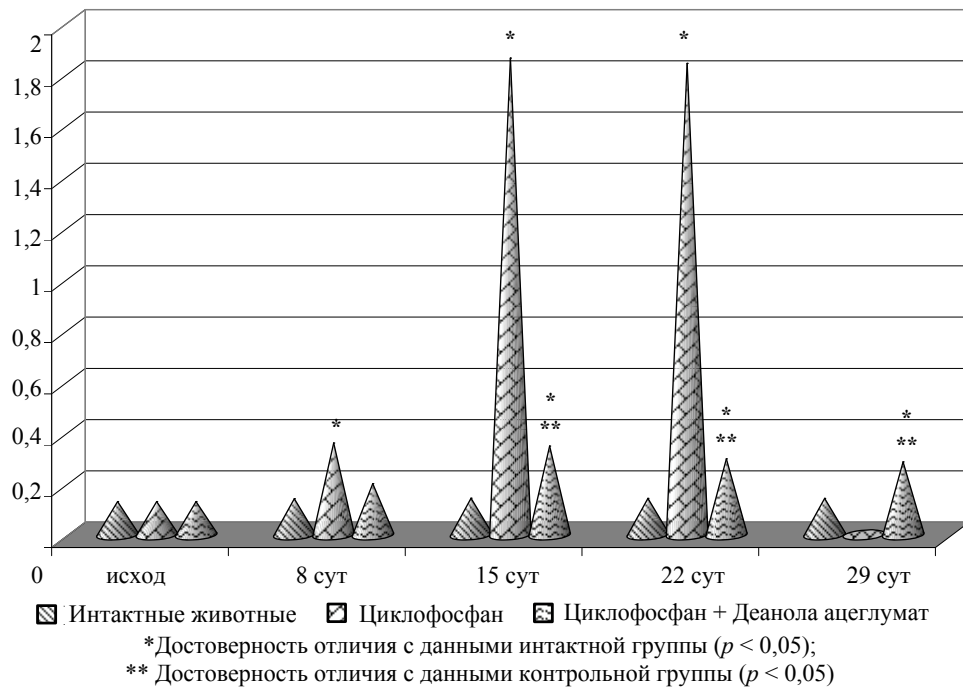


Рис. 2 Динамика индекса ядерного сдвига в крови кроликов на фоне введения циклофосфана, сочетанного введения циклофосфана и деанола ацеглумата

Применение деанола ацеглумата в комплексе с химиопрепаратом обеспечивало достаточно высокую пролиферативную активность кроветворных клеток. В течение трех недель от начала введения соединения количество митозов даже несколько превышало исходный уровень $0,15 \pm 0,01$ ($p_{\text{и}} < 0,01$). Однако на 29-й день опыта был отмечен спад пролиферативной активности с сокращением количества митозов до $0,04 \pm 0,002/\text{мкл}$ ($p < 0,001$). У контрольных животных ингибирование митотической активности начиналось на восьмой день эксперимента и в конечном итоге приводило к полной блокаде пролиферативных процессов.

Полный курс инъекций циклофосфана по результатам контрольной серии вызывал заметное сокращение численности недифференцированных бластных клеток в костном мозге. Под влиянием деанола ацеглумата количество бластных форм до конца третьей недели включительно вдвое превышало первоначальное значение ($p_{\text{и}} < 0,001$). На 29-е сутки одновременно с резким уменьшением пролиферативной активности и общей клеточности произошло снижение содержания бластных клеток в костном мозге до $0,24 \pm 0,02 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,001$). В миелограмме, напротив, на протяжении курса вливаний циклофосфана и деанола ацеглумата относительное количество бластных клеток было статистически значимо увеличено в 2 раза по отношению к исходному уровню ($p_{\text{и}} < 0,001$).

У животных, получавших деанола ацеглумат, абсолютное количество костномозговых промиелоцитов постепенно уменьшалось от $0,99 \pm 0,06 \cdot 10^3/\text{мкл}$ в начале опыта до $0,10 \pm 0,01 \cdot 10^3/\text{мкл}$ при завершающем исследовании ($p_{\text{к}} < 0,01$). В серии без коррекции циклофосфановый дефицит промиелоцитов был более выражен $0,02 \pm 0,001 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,01$). Содержание миело-

цитов в костном мозге на фоне деанола ацеглумата и цитостатика через неделю после начала опыта заметно увеличилось от $0,60 \pm 0,03 \cdot 10^3/\text{мкл}$ до $1,19 \pm 0,06 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,001$). Еще через семь дней в пробах костного мозга данные клетки не определялись. Во второй половине эксперимента миелоциты вновь появились в пунктате, их количество статистически значительно превышало показатели в контрольной серии – на 22-й день 1 мкл пунктата содержал $301,00 \pm 40,00$ миелоцитов ($p_k < 0,001$), а на 29-й – не более $104,00 \pm 10,00$ ($p_k < 0,01$). Изменения показателей миелограммы происходили в той же последовательности. На фоне цитостатика и деанола ацеглумата наблюдались идентичные количественные изменения величин костномозговых метамиелоцитов.

Абсолютное количество костномозговых палочкоядерных нейтрофилов в серии с деанола ацеглуматом к концу эксперимента постепенно снизилось от $1,01 \pm 0,04 \cdot 10^3/\text{мкл}$ до $0,17 \pm 0,01 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,001$). В конце второй и третьей недели относительное содержание данных клеток в миелограмме уменьшилось до минимального – $1,00 \pm 0,001 \%$ и $2,00 \pm 0,26 \%$, еще через семь дней восстановилось до $5,00 \pm 0,26 \%$ ($p > 0,05$) ($6,61 \pm 0,23 \%$ в начале эксперимента). У животных, не получавших лечения, сокращение численности палочкоядерных нейтрофилов наблюдалось с 15-го дня опыта, на 29-й день абсолютное количество костномозговых палочкоядерных нейтрофилов в серии с дополнительным введением деанола ацеглумата было в 3 раза больше, чем в контрольной ($p < 0,01$).

На фоне совместного применения деанола ацеглумата и циклофосфана с каждой неделей возрастали потери сегментоядерных нейтрофилов. Если у интактных кроликов в 1 мкл пунктата определялось $1,46 \pm 0,07 \cdot 10^3/\text{мкл}$ данных клеток, то в середине опыта при дополнительном введении деанола ацеглумата их количество уменьшилось наполовину, а в конце составило $0,50 \pm 0,02 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,01$). Показатель миелограммы был снижен до $5,00 \pm 0,37 \%$, в конце последней недели повысился до $14,00 \pm 0,37 \%$ (первоначально $9,51 \pm 0,42 \%$). В серии без коррекции дефицит сегментоядерных нейтрофилов наблюдался только во второй половине опыта, но был более значительным, к 29-му дню показатель составлял $0,06 \pm 0,01 \cdot 10^3/\text{мкл}$ ($p < 0,001$).

У животных, получавших деанола ацеглумат, наблюдались выраженные колебания индекса созревания нейтрофилов в первой половине опыта ($p < 0,001$), в дальнейшем показатели в сериях статистически значимо не отличались ($p_k > 0,05$) (рис. 3).

При использовании деанола ацеглумата эозинофильный ряд клеток повреждался, как и в контрольной серии животных.

У животных, получавших циклофосфан в комплексе с деанола ацеглуматом, абсолютное и относительное количество костномозговых моноцитов через неделю от начала эксперимента достоверно не изменялось. В следующие две недели происходило накопление данных клеток в костном мозге от $210,00 \pm 20,00/\text{мкл}$ ($1,32 \pm 0,13 \%$ в миелограмме) до $901,00 \pm 60,00/\text{мкл}$ ($6,00 \pm 0,37 \%$) на 22-е сутки ($p < 0,001$). Спустя еще семь дней содержание моноцитов сократилось до $136,00 \pm 10,00/\text{мкл}$ ($4,00 \pm 0,37 \%$) ($p < 0,05$). У животных контроля во второй половине опыта развивалась абсолютная костномозговая моноцитопения.

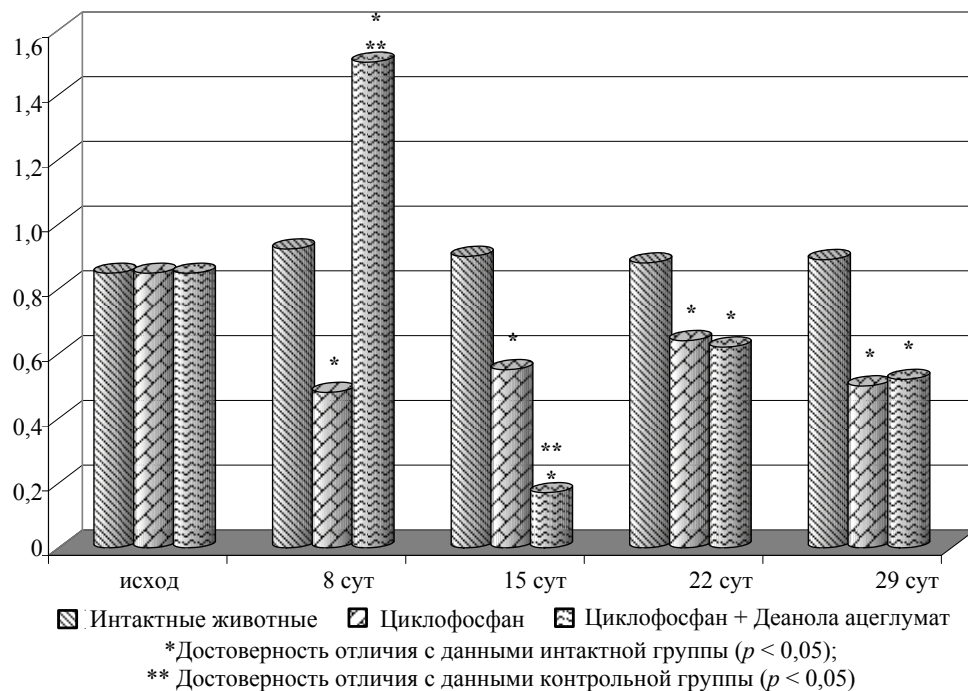


Рис. 3 Динамика индекса созревания нейтрофилов в костном мозге кроликов на фоне введения циклофосфана и сочетанного введения циклофосфана и деанола ацеглумата

Полный курс циклофосфана в контрольной серии приводил к прогрессирующему дефициту костномозговых лимфоидных клеток вплоть до полного разрушения ростка. В условиях применения цитостатика в комплексе с деанола ацеглуматом содержание лимфоидных клеток в костном мозге не уменьшалось в течение трех недель, затем сократилось до $0,97 \pm 0,06 \cdot 10^3/\text{мкл}$ (в начале опыта $3,75 \pm 0,14 \cdot 10^3/\text{мкл}$) ($p_{\text{н}} < 0,001$).

Выводы

Таким образом, применение деанола ацеглумата в данном режиме введения уменьшает последствия токсического влияния циклофосфана, предотвращает развитие лейкопении, уменьшает степень потерь миелокариоцитов (за счет сохранности костномозговых моноцитов и лимфоцитов) в первые три недели после цитостатического воздействия, способствует восстановлению мегакариоцитов. Однако поддержание клеточного состава крови на удовлетворительном уровне на фоне курса введения циклофосфана связано с чрезмерным напряжением кроветворения и торможением пролиферативных и дифференцировочных процессов в гранулоцитарном пуле кроветворного костного мозга.

Список литературы

1. Ильин, Л. А. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований лимфатической и кроветворной тканей среди населения города Озерска за период с 1948 по 2000 гг. / Л. А. Ильин, Н. А. Кошурникова, И. С. Кузнецова [и др.] // Мед. радиол. и радиац. безопасность. – 2003. – Т. 48. – № 1. – С. 65–70.

2. **Иванов, С. Д.** Прогнозирование лейкопении на начальных этапах лучевой и химиотерапии больных лимфогранулематозом / С. Д. Иванов // Вопросы онкологии. – 2000. – Т. 46. – № 2. – С. 129.
3. **Сакаева, Д. Д.** Нейтропения при комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей и методы ее коррекции / Д. Д. Сакаева // Гемат. и трансфузиол. – 2003. – Т. 48 (5). – С. 41–48.
4. **Chanock, S. J.** Infectious complications of patients undergoing therapy for acute leukemia: current status and future prospects / S. J. Chanock, P. A. Pizzo // Semin. oncol. – 1997. – V. 24. – P. 132–140.
5. **Seed, T. M.** Blood responses under chronic low daily dose gamma irradiation: I. Differential preclinical responses of irradiated male dogs in progression to either aplastic anemia or myeloproliferative disease / T. M. Seed, B. A. Carnes, D. V. Tolle [et al.] // Leuk. Res. – 1989. – V. 13. – № 12. – P. 1069–1084.
6. **Поддубная, И. В.** Комбинация таксотера и доксирубицина в химиотерапии диссеминированного рака молочной железы / И. В. Поддубная, Л. В. Манзюк, Е. В. Артамонова [и др.] // Вопросы онкологии. – 2001. – № 6. – Т. 47. – С. 728–730.
7. **Lembersky, S.** Phase II Trial of Doxorubicin and Docetaxel for Locally Advanced and Metastatic Breast Cancer: Preliminary Results from NSABP BP-57 / S. Lembersky, R. Anderson, A. Smith [et al.] // Proc. ASCO. – 2000. – V. 19. – Abstr. 403.
8. **Гольдберг, Е. Д.** Роль гемопоэзинуцирующего микроокружения при цитостатических миелосупрессиях / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. В. Жданов. – Томск, 1999.
9. **Dexter, T. M.** Haemopoietic growth factors / T. M. Dexter // Brain Med. Bull. – 1989. – V. 45. – № 2. – P. 337–349.
10. **Суслов, Н. И.,** Провалова Н. В., Скурихин Е. Г. и др. // Материалы конференции, посвященной 15-летию НИИ фармакологии. – Томск, 1999. – Т. 10. – С. 94–103.
11. **Скопин, П. И.** Влияние комбинированного применения циклофосфана и эмоксипина на степень эндотоксикоза и рост холангиоцеллюлярного рака РС-1 и меланомы В-16 в эксперименте : дис. ... канд. мед. наук / П. И. Скопин. – Саранск, 2005. – 178 с.
12. **Скачилова, С. Я.** Деманол – эффективное ноотропное средство / С. Я. Скачилова, Г. А. Ермакова, Л. Н. Сернов [и др.] // Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам : тезисы III Международной конференции. – Суздаль, 2001. – С. 134.
13. **Скачилова, С. Я.** Нооклерин® – новый отечественный ноотроп / С. Я. Скачилова, Т. А. Воронина // Больница. – 2002. – № 12. – С. 14.
14. **Скачилова, С. Я.** Нооклерин – новый отечественный ноотроп (научный обзор) / С. Я. Скачилова, Г. А. Ермакова, Л. Н. Сернов [и др.]. – М., 2002.
15. **Радкевич, Л. А.** Пути фармакологической коррекции некоторых механизмов хронической патологии печени : автореф. дис. ... докт. биол. наук // Л. А. Радкевич. – Купавна, 1998. – 38 с.
16. **Саврасова, Т. В.** Влияние ЛБК-149 и нооклерина на некоторые метаболические показатели при ишемическом повреждении головного мозга в условиях дислипидемии : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т. В. Саврасова ; МГУ им. Н. П. Огарева. – Купавна, 2005. – 18 с.

Кустикова Ирина Николаевна

старший преподаватель, кафедра общей и клинической фармакологии, Медицинский институт, Пензенский государственный университет

E-mail: pgu_farm@mail.ru

Kustikova Irina Nikolaevna

Senior lecturer, sub-department of general and clinical pharmacology, Medical institute, Penza State University

Моисеева Инесса Яковлевна

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой общей
и клинической фармакологии,
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет

E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru

Moiseeva Inessa Yakovlevna

Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of general
and clinical pharmacology,
Medical institute, Penza State University

Ионичева Любовь Владимировна

кандидат медицинских наук, доцент,
кафедра физиологии человека
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет

E-mail: pg_u_farm@mail.ru

Ionicheva Lyubov Vladimirovna

Candidate of medical sciences,
associate professor, human physiology
sub-department, Medical institute,
Penza State University

Бурко Павел Александрович

студент, Медицинский институт,
Пензенский государственный
университет

E-mail: pg_u_farm@mail.ru

Burko Pavel Alexandrovich

Student, Medical institute,
Penza State University

УДК 616.153.915:612(085)

Кустикова, И. Н.

Изучение влияния сочетанного применения циклофосфана и деа-нола ацеглумата на некоторые показатели клеточного состава венозной крови и гемопоэз кроликов / И. Н. Кустикова, И. Я. Моисеева, Л. В. Ионичева, П. А. Бурко // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – № 3 (11). – С. 32–40.