

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616.155.18:612.43].001.57-07:612.017.1

Черешнев В.А., Самоделкин Е.И., Косарева П.В., Сивакова Л.В.,
Шилов Е.Ю., Федык О.В., Хоринко В.П.

Морфологические изменения в центральных и периферических органах иммуногенеза при моделировании токсической гемолитической анемии на фоне острого холодового стресса

ГБУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России,
614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Цель исследования — оценка изменений показателей красной крови и морфологии органов иммуногенеза при токсической гемолитической анемии, вызванной введением фенилгидразина, на фоне острого холодового стресса. **Методика.** В эксперименте использовано 80 нелинейных белых крыс в возрасте 4 мес., разделенных на 4 группы: изолированный стресс, введение ФГ, сочетание введения ФГ и острого стресса, контроль. 2,5% раствор фенилгидразина (ФГ) вводили интраперитонеально в дозе 20 мг/кг. Острый холодовой стресс: температура +4°C, экспозиция — 1,5 ч, через сутки после введения ФГ. До начала эксперимента и по его окончании у животных регистрировали показатели периферической крови. На 10-е сут. животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии, выполняли гистологические и морфометрические исследования органов (тимус, селезенка). **Результаты.** В центральных и периферических органах иммуногенеза животных опытных групп наблюдали сходные изменения, являющиеся проявлениями острого стресса, но выраженные в разной степени. **Заключение.** Установлено, что в условиях эксперимента острый стресс усугубляет проявления приобретенной гемолитической анемии при ее моделировании, что необходимо учитывать при интерпретации результатов экспериментальных исследований.

Ключевые слова: приобретенная токсическая гемолитическая анемия; фенилгидразин; острый холодовой стресс; органы иммуногенеза.

Для цитирования: Черешнев В.А., Самоделкин Е.И., Косарева П.В., Сивакова Л.В., Шилов Е.Ю., Федык О.В., Хоринко В.П. Морфологические изменения в центральных и периферических органах иммуногенеза при моделировании токсической гемолитической анемии на фоне острого холодового стресса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(3): 46–51. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.46-51

Для корреспонденции: Самоделкин Евгений Иванович, доктор мед. наук, проф., каф. патологической физиологии; e-mail: sei-p@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.02.2016

Chereshnev V.A., Samodelkin E.I., Kosareva P.V., Sivakova L.V.,
Shilov Yu.I., Fedyk O.V., Khorinko V.P.

Morphologic changes in the central and peripheral organs of immunogenesis in modelling of toxic hemolytic anemia associated with an acute cold stress

SBEI HPT «Perm State University of Medicine named after ac. E.A. Wagner» of the RF Ministry of Health;
614000, Russia, Perm, Petropavlovskaya street, 26

The purpose: To experimentally characterize the changes in the indices of red blood cells, and the morphology of immunogenesis when acquired toxic hemolytic anemia caused by the introduction of phenylhydrazine on the background of acute cold stress. **Methods.** In the experiment we used 80 white non-pedigree rats of 4-month old — 4 groups: isolated stress, phenylhydrazine (PH) infusion, a combination of an acute cold stress and PH infusion, control. 2,5% solution of PH was injected intraperitoneally (i.p.) in the dose of 20 mg/kg. The characteristics of an acute cold stress are the following: the temperature was +4°C, exposition — 1,5 h, in a day after PH infusion. The indices of peripheral blood were registered before and after the experiment. **Results.** On the 10th day the animals were removed from the experiment under ether narcosis with observing all euthanasia rules and the samples of autopsy material for the following histologic examination were taken (spleen, thymus). The central and peripheral organs of immunogenesis of the investigated animals showed similar

changes which were the manifestations of the acute cold stress, but expressed in different degrees. **Conclusion.** It is determined that under experimental conditions an acute cold stress aggravates acquired hemolytic anemia in its modeling that should be taken into account during interpretation of results of experimental investigations.

Keywords: acquired toxic hemolytic anemia; phenylhydrazine; acute cold stress; organs of immunogenesis.

For citation: Chereshev V.A., Samodelkin E.I., Kosareva P.V., Sivakova L.V., Shilov Yu.I., Fedyk O.V., Khorinko V.P Morphologic changes in the central and peripheral organs of immunogenesis in modeling of toxic hemolytic anemia associated with an acute cold stress. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61 (3): 46–51. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.46-51

For correspondence: Eugeny I. Samodelkin, Doctor of Medical Sciences, Professor of Department of Pathological Physiology State Budgetary Institution of Higher Professional Education «Perm State Medical University named after EA Wagner «of Ministry of Health of Russian Federation, 26, ul. Petropaulovskaya, Perm, 614990, Russian Federation, e-mail: sei-p@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Kosareva P.V., <https://orcid.org/0000-0002-0853-925X>

Received 10.02.2016

Введение

На сегодняшний день существует множество экспериментальных моделей приобретенной гемолитической анемии (ПГА), различающихся методологическими подходами [1–6]. С одной стороны, это связано с разнообразием факторов, приводящих к развитию ПГА, с другой — с поиском наиболее оптимальной экспериментальной модели. Поскольку остается немало спорных вопросов, касающихся патогенеза и патоморфологии ПГА, ответы на которые могут дать только экспериментальные исследования, разработка новых экспериментальных моделей приобретенных токсических ПГА является актуальной задачей. Кроме того, при моделировании приобретенной токсической гемолитической анемии (ПТГА) не учитывается влияние острого стресса на ее течение. Между тем, в процессе любого эксперимента животное неизбежно подвергается действию стрессоров (иммобилизация, травма, сопровождающая забор крови и пр.). Помимо этого, воздействие на организм токсических веществ само по себе является острым стрессом и способно вызывать значимое подавление иммунитета [7].

Цель исследования — оценка изменений показателей красной крови и морфологии органов иммуногенеза при приобретенной токсической гемолитической анемии, вызванной введением фенилгидразина, на фоне острого холодового стресса.

Методика

В эксперименте использовано 40 нелинейных белых крыс 4-месячного возраста, с массой тела 150–200 г, содержащихся в стандартных условиях

вивария; эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г.

Гемолитическую анемию у экспериментальных животных вызывали однократным интраперитонеальным введением токсического агента с гемолитическим действием — фенилгидразина (ФГ — Phenylhydrazine; $C_6H_5NHNH_2$ — исходный продукт в производстве азокрасителей, лекарственных препаратов (например, антипирина, амидопирина).

ФГ (2,5% раствор ФГ в дозе 20 мг/кг) вводили интраперитонеально однократно под легким эфирным наркозом по оригинальной методике (Патент № 2528976 Российская Федерация МПК G09B 23/28 «Способ моделирования приобретенной токсической гемолитической анемии в эксперименте»). Животных подвергали острому холодовому стрессу однократно: температура $+4^{\circ}C$, экспозиция — 1,5 ч, через сутки после введения ФГ. Сформировано 4 экспериментальных группы по 20 животных в каждой: 1-я группа — интактные животные, содержащиеся в стандартных условиях вивария; 2-я — введение ФГ; 3-я — введение ФГ + острый холодовой стресс; 4-я — изолированный острый холодовой стресс. До начала эксперимента и по его окончании регистрировали с помощью гематологического автоматического анализатора Medikon M20 (Boule Medical A.B., Швеция) показатели периферической крови. На 10-е сут. животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии. Гистологические исследования селезенки и тимуса проведены по стандартным методикам. Морфометрический анализ исследуемых образцов осуществ-

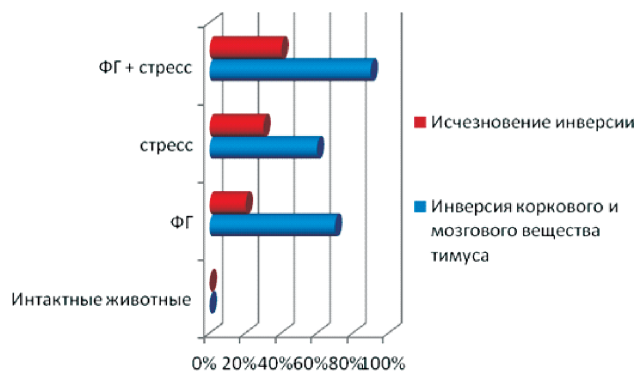


Рис. 1. Изменения в ткани тимуса экспериментальных животных.

ляли при помощи программного обеспечения BioVision, version 4,0 (Австрия), захват изображений — с использованием цифровой камеры для микроскопа CAM V200, Vision (Австрия). Точность и надежность числовых значений обеспечивается использованием адекватного оборудования. Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики, критериев Манна—Уитни для непарных и Вилкоксона для парных данных; для анализа частоты проявления изменений в группах использовали критерий χ^2 [8]. Критическим уровнем статистической значимости различий считали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Во время проведения эксперимента не отмечено случаев гибели животных. При введении фенилгидразина (как в группе со стрессом, так и при изолированном введении) наблюдалось статистически значимое снижение концентрации гемоглобина и количества эритроцитов и увеличение процента ретикулоцитов

в мазках к концу эксперимента по сравнению с исходными данными (табл. 1).

У всех животных с изолированным введением фенилгидразина к 10-м сут. в ткани тимуса отмечались гемодинамические расстройства, признаки инверсии коркового и мозгового вещества тимуса в отдельных дольках. В 80% имела место гибель лимфоцитов в корковом веществе, в 20% — исчезновение инверсии слоев, гибель лимфоцитов отмечена и в мозговом веществе (рис. 1, 2); $p < 0,05$; критерий χ^2 по сравнению с группой с сочетанием введения ФГ и острым стрессом. Отмечена коллагенизация стромы тимуса, формирование тимусных телец не только в мозговом, но и в корковом веществе (70%).

В селезенке наблюдалось уменьшение объема белой пульпы по сравнению с контрольной группой (табл. 2). В большинстве препаратов (80%) визуализировались лимфоидные узелки с типичной структурой. Гемодинамические нарушения в виде отека стромы селезенки и полнокровия сосудов, включая синусоидные капилляры, отмечались у 100% животных этой группы.

В группе с изолированным холодovým стрессом к 10-м сут. эксперимента в ткани тимуса отмечались, прежде всего, гемодинамические нарушения. Изменения лимфоидной ткани заключались в коллагенизации стромы долек и междольковой соединительной ткани, инверсии коркового и мозгового вещества тимуса (60%), исчезновении и стирании границ между ними, исчезновении инверсии (30%; $p < 0,05$; критерий χ^2 по сравнению с группой сочетание стресса и введения ФГ; рис. 1), визуализации участков гибели лимфоцитов в корковом (60%) и мозговом веществе (30%). У всех животных этой экспериментальной группы отмечалось формирование тимусных телец не только в мозговом, но и в корковом веществе (60%). В селезенке наблюдалось уменьшение объема белой

Таблица 1

Концентрация гемоглобина, количество эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови экспериментальных животных (M ± m)

Экспериментальная группа	Количество эритроцитов в начале эксперимента ($\times 10^9$ в 1 мкл крови)	Количество эритроцитов в конце эксперимента ($\times 10^9$ в 1 мкл крови)	Уровень Hb в начале эксперимента (г/л)	Уровень Hb в конце эксперимента (г/л)	Количество ретикулоцитов в начале эксперимента (%)	Количество ретикулоцитов в конце эксперимента (%)
Контрольные животные, n = 10	6,46 ± 0,57	6,53 ± 1,88	118,4 ± 9,82	122,8 ± 5,57	1,429 ± 0,19	1,787 ± 0,24
Введение ФГ, n = 10	6,34 ± 0,88	4,56 ± 0,15 *а	127 ± 6,71	70,2 ± 5,43 *а	1,557 ± 0,13	5,471 ± 0,58 *а
Острый холодový стресс, n = 10	6,27 ± 0,98	6,35 ± 0,34	123,4 ± 7,86	127,9 ± 8,32	1,662 ± 0,14	1,994 ± 0,15
Введение ФГ с последующим острым холодovým стрессом, n = 10	6,46 ± 0,97	4,11 ± 1,22 *	130 ± 5,90	77,4 ± 3,95 *	1,351 ± 0,12	4,679 ± 0,40 *

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к исходным данным по парному критерию Вилкоксона

пульпы, но менее выраженное, чем в группе стресс + введение ФГ (табл. 2, рис. 3). В большинстве препаратов визуализировались лимфоидные узелки с типичной структурой (80%), отмечались гемодинамические нарушения (100%).

У всех животных (100%), подвергнутых введению ФГ и острому стрессу, к 10-м сут. в тимусе выявлялись признаки отека соединительной ткани и полнокровие сосудов, а также инверсия коркового и мозгового вещества — за счет обеднения коркового вещества лимфоцитами; у части животных данной группы (40%) отмечалось исчезновение инверсии в отдельных долях тимуса с истощением не только коркового, но и мозгового вещества тимуса (рис. 1, 4). В селезенке животных этой группы выявлено статистически значимое уменьшение удельного (относительного) объема белой пульпы по сравнению с контрольной группой (табл. 2), у части животных (20%) — гемосидероз красной пульпы. В части лимфоидных узелков выявлялось нарушение типичной организации, выражавшееся в исчезновении светлых центров (80%), отеке стромы и полнокровии сосудов, включая синусоидные капилляры.

Таким образом, у животных, подвергнутых как стрессу, так и введению токсического агента с гемолитическим действием ФГ (что в свою очередь также является разновидностью стрессового фактора), в органах иммунной системы были выявлены изменения, характерные для острого стресса — уменьшение объема лимфоидной ткани в тимусе и селезенке, с той лишь разницей, что морфологические изменения органов иммунитета у животных, подвергнутых только стрессу или получавших только ФГ, были сопоставимы, а в группе с сочетанием введения ФГ и острого стресса они были значительно более выраженными. В условиях эксперимента острый стресс усугубляет проявления модулируемой гемолитической анемии, что необходимо учитывать при интерпретации результатов экспериментальных исследований.

Известно, что на острый стресс организм отвечает триадой симптомов — увеличением коркового вещества надпочечников и повышением его активности, редукцией тимуса и лимфатических узлов, появлением эрозий на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта («общий адаптационный синдром», по

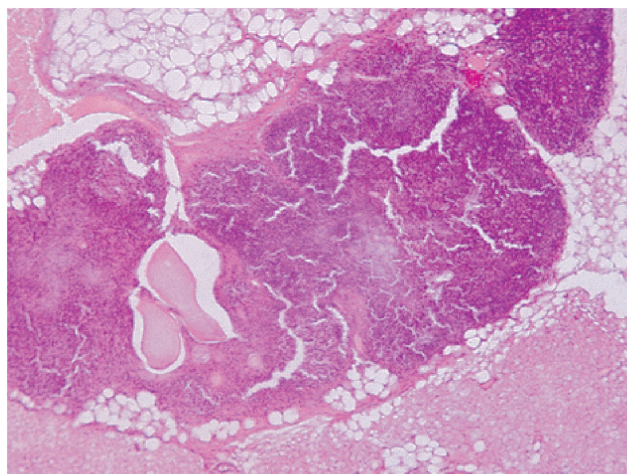


Рис. 2. Тимус животного, подвергнутого введению ФГ — инволюция части долек, отсутствие дифференциации коркового и мозгового вещества вследствие гибели лимфоцитов. Гематоксилин и эозин x 100.

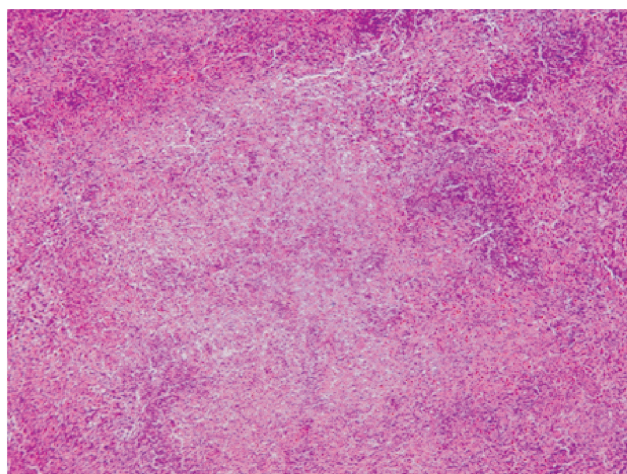


Рис. 3. Селезенка животного с острым стрессом — инволюция белой пульпы, гемосидероз красной пульпы. Гематоксилин и эозин x 100.

Г. Селье), который протекает в три стадии: тревоги, резистентности и истощения [9, 10].

К настоящему времени в реализации стресса неплохо изучены деятельность сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, желудочно-кишечного тракта (кровотечения), но реакция на стресс иммунной системы изучена недостаточно [9]. Однако еще Г. Селье при изучении стресса наряду с увеличением

Удельный объем белой пульпы в селезенке экспериментальных животных (%)

Таблица 2

Удельный объем белой пульпы в селезенке (%)	Контрольные животные, n = 20	Введение ФГ, n = 20	Введение ФГ с последующим острым холодным стрессом, n = 20	Острый холодный стресс, n = 20
	30,18 ± 2,69	24,86 ± 1,33*	18,25 ± 0,93*	22,98 ± 2,45*

Примечание. * p<0,05 по отношению к контролю по критерию Манна—Уитни

массы надпочечников наблюдал уменьшение массы и размеров тимуса [10]. За несколько десятилетий до появления в печати работ Г. Селье немецкий патологоанатом J.A. Нампг описал уменьшение размеров тимуса у детей при инфекциях, обозначив этот феномен как акцидентальную инволюцию тимуса [11]. В дальнейшем было показано многими исследователями, что акцидентальная инволюция тимуса развивается не только при воздействии инфекционного агента, но также при действии на организм самых разных факторов [12—14].

В условиях стресса акцидентальная инволюция тимуса отражает подавление его функции [9, 15]. Обобщение имеющихся к настоящему времени в литературе сведений позволяет представить этот процесс в виде последовательной смены 5 фаз; вместе с тем, процессы гибели и миграции Т-лимфоцитов в разных долях протекают неравномерно, и отсутствие строгого параллелизма изменений в долях отражается в морфологической картине той или иной стадии [9]. Кроме того, характер ответа тимуса на воздействие стрессора зависит от природы стрессора [16, 17].

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что снижение сопротивляемости организма при стрессе связано не столько с повышением в крови уровня глюкокортикоидов, сколько с недостаточностью функциональной активности тимуса, подтверждением чему может служить наличие в периферической крови нейтрофильного лейкоцитоза и лимфоцитопении в стадии тревоги; при этом принято считать, что эти изменения обусловлены перераспределением клеточных элементов между лимфоидными органами, циркулирующей кровью и костным мозгом в ответ на

действие повреждающего фактора [9]. Кроме того, при остром стрессе в стадии тревоги отмечается повышенная пролиферация клеток миелоидного ряда и увеличение количества нейтрофилов в единице объема крови, что связано с поступлением в кровяное русло нейтрофилов из пристеночного пула [18], лимфоцитопения при остром стрессе имеет, как правило, относительный характер [19]. Однако на сегодняшний день имеются данные, свидетельствующие о том, что нейтрофильный лейкоцитоз и лимфоцитопения при остром стрессе могут развиваться и в результате иных причин — в частности, из-за апоптоза кортизолчувствительных лимфоцитов при повышении в крови уровня кортикостероидов, то есть уменьшение в крови лимфоцитов при остром стрессе может быть не только относительным [9]. Вместе с тем, по данным других авторов, лимфопения в лимфоидных органах при стресс-реакции развивается не в результате распада клеток, а за счет уменьшения новообразования и усиленной миграции лимфоцитов из этих органов в костный мозг с образованием «лимфоидного пика» [20]. То есть вопрос этот остается дискуссионным.

Существует две группы факторов, способных вызвать индуцированное стрессом значимое подавление иммунитета: при прямой активации нейроэндокринной оси из-за увеличения продукции гипоталамусом кортикотропин-высвобождающего гормона — к этой группе относится воздействие на организм токсических веществ и эмоционального стресса; при косвенной активации нейроэндокринной оси — при инфекционных болезнях и несбалансированном питании [7, 21]. То есть, развивающиеся при острых отравлениях изменения в иммунной системе расцениваются подобно возникающим в ответ на действие стресса [22].

Таким образом, в тимусе животных, подвергнутых введению сильнодействующего токсического вещества — фенилгидразина — и острому холодовому стрессу, мы наблюдали изменения, типичные для 3-й и 4-й фаз акцидентальной инволюции тимуса, соответствующие стадии тревоги по Селье. Эти изменения были выражены в большей степени у животных, при сочетанном действии стресса и введения ФГ. Выявленный феномен может быть объяснен, с одной стороны, тем, что острое отравление само является разновидностью стресса, усугубляя изменения в органах иммуногенеза. С другой стороны, при остром холодовом стрессе возможно сочетание действия стрессового фактора и температурного, что может усугублять проявления гемолитической анемии за счет действия холодовых антиэритроцитарных антител.

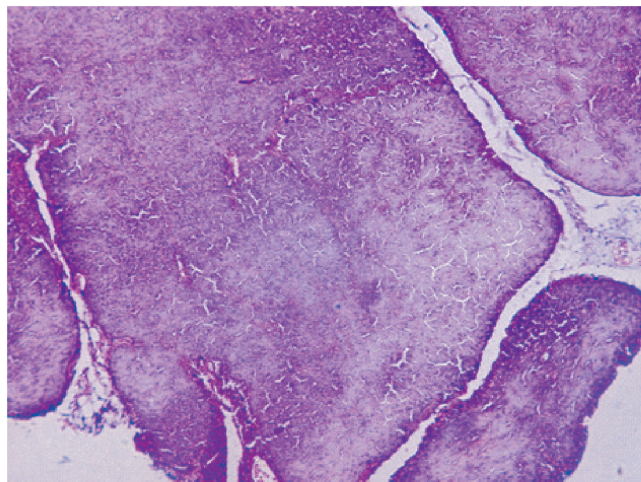


Рис. 4. Тимус животного, подвергнутого введению ФГ и острому стрессу — обширные некрозы коркового и мозгового вещества. Гематоксилин и эозин x 100.

References

1. Menshikov I.V., Beduleva L.V., Ivanov V.V. The role of idiotype-anti-idiotype interactions in the induction of autoreactive lymphocyte clones with experimentally induced autoimmune hemolytic anemia in mice. *Rus. Immun. zhurnal.* 2008; 2 (2-3): 235. (In Russian)
2. Zhernov Y. The study of the antioxidant effect of humic acids peloids when acquired hemolytic anemia. *Kislород I Antioksidantny.* 2009; 1: 73-4. (In Russian)
3. Moiseenko N.A., Ivankova Zh.E., Repina E.N., Volodin V.V. Hemato protective effect of ecdysteroid serpisten substance. *Theoretic. I Prikladnaya Ecologiya.* 2012; 1: 43-8. (In Russian)
4. Sazonova V.V. Peroxidation syndrome in dogs with hemolytic anemia. Proceedings of the conference of the Russian Academy of Natural Sciences «Modern medical technologies (diagnostics, therapy, rehabilitation and prevention).» *Fundamental. Issledov.* 2005; 6: 96. (In Russian)
5. Bazzoni G.B., Bollini A.N., Hernandez G.N. et al. In vivo effect of aluminium upon the physical properties of the erythrocyte membrane. *J. Inorg. Biochem.* 2005; 99 (3): 822-827.
6. E-Ashtavy IM, S. Gad, salad OM Grap Seed Extract prevention azatneprine toksitsity John RATS. *Fototner. RES.* 2010; 24 (11): 1710-1715.
7. Ivankova Zh.E., N.A. Moiseenko, Repina E.N. Effect of 20 hydroxyecdysone on the parameters of red and white blood cells in hemolytic anemia. *Ecolog. Chel. Pril.* 2004; 1: 327-9. (In Russian)
8. Glantz S. Biomedical statistics. M.: Practice 1999; 459.
9. Kiseleva NM, Kuzmenko LG, Nkana Nkosa MM Stress and lymphocytes. *Pediatrics.* 2012; 91(1): 137-43.
10. Selye G. *Studies on adaptation syndrome*: Trans. from English. M.: Medgiz, 1960: 255.
11. Hammar J.A. Histogenesis und Involution der Thymsdruse. *Anat. Anz.* 1905; 27: 23-30, 41-89.
12. Selye G. At the level of the whole organism: lane. from English. M.: Nauka, 1972: 121.
13. Shalaev S., Markov I.I., Chuchkov V.M. The influence of some extreme factors on the morphology of organs of the immune system in the conditions of application of anti-rabies vaccines. *Functional. neuromorphology. Fund. I Priclad. Issled.* Minsk. 2001: 377-80. (In Russian)
14. Muller-Hermelink H. The human thymus. Berlin: Springer Verlag, 1986: 207-69. (In Russian)
15. Pertsov SS Effect of melatonin on the thymus, spleen and adrenal glands in rats with acute stress load. *Bulluten Eksperimentalnoy Biologii Meditsiny.* 2006; 33: 263-6. (in Russian)
16. Fuchs B.A., Pruet S.B. Morphine produces apoptosis in murine thymocytes in vivo but not in vitro. *J. Pharmacol. Expl. Therapeutics.* 1993; 266: 652.
17. Munck A., Guyre P.M., Holbrook N.J. Physiological Functions of glucocorticoids in Stress and their relation to Pharmacological Actions, *Endocrine Reviews.* 1984; 5: 25.
18. Dolgushin II, Bukharin OV. Neutrophils and homeostasis. Ekaterinburg, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, 2001: 9. (in Russian)
19. Verkhoglyadova NM, Kurganova LV, Kachur AY. Interpretation of hematological research. Veterinary hospital «Fauna-service». 2005; 1: 35-40. (In Russian)
20. Ivanova I.K., Lonshakova K.S., Shantanova L.N. Morphological and functional changes of the thymus of rats during immobilization stress and their correction fitosredstv «Tanton». *Bulletin Vost-Sib. Nauch. Tsentra Sib. Otd. Rus. Akad. Med. Nauk.* 2009; 2: 260-1. (In Russian)
21. Hassig A., Wen-Xi L., Stampflil K. Stress-induced suppression of the cellular immune reactions: on the neuro-endocrine control of the immune system. *Med. Hypotheses.* 1995; 46 (6): 551-555.
22. Zabrodskii PF. Changes in non-specific resistance and the immune status of acute poisoning arsenite [*Izmeneniye nespetsificheskoy rezistentnosti organizma i immunnogo statusa pri ostrom otravlenii arsenitami*]. Saratov, 2012; 157. (In Russian)

Сведения об авторах:

Черешнев Валерий Александрович, доктор мед. наук, проф., академик РАН, зав. каф. иммунологии

Косарева Полина Владимировна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. отдела морфологических и патофизиологических исследований ЦНИЛ, зав. курсом клинической лабораторной диагностики каф. микробиологии, вирусологии с курсом КЛД, e-mail: sei-p@mail.ru

Сивакова Людмила Владимировна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, ст. преподаватель каф. микробиологии, вирусологии с курсом КЛД

Шилов Юрий Иванович, канд. мед. наук, доцент каф. иммунологии

Федык Оксана Владимировна, аспирант заочной формы обучения каф. иммунологии

Хоринко Виталий Петрович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отдела морфологических и патофизиологических исследований ЦНИЛ