

© Коллектив авторов, 2012  
УДК 611.018.2:578.083

*Х. П. Тахчиди, С. В. Новиков, А. В. Шацких, Е. Х. Тахчиди и К. С. Горбунова*

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМПЛЕКСА СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ ФИБРОБЛАСТОВ IN VITRO

Лаборатория патологической анатомии и гистологии глаза (зав. — канд. мед. наук А. В. Шацких),  
ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздравсоцразвития России, Москва

Исследовано влияние оригинальной субстанции сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) (кератансульфата с хондроитинсульфатом) в эксперименте *in vitro* на культуре фибробластов мыши линии L929. Применяли две формы (раствор и гель) активного вещества в концентрации от 0,1 до 5%. Прослеживали динамику роста фибробластов в культуре до 144 ч с использованием автоматического цифрового конфокального микроскопа. При изучении влияния оригинальной смеси сГАГ выявлен бимодальный эффект: низкие концентрации активного вещества (0,1–0,5%) стимулируют пролиферацию фибробластов, начиная с 1 до 5%, наблюдается антипролиферативный эффект. Изменение формы сГАГ (раствор или гель) не влияет на функциональные способности вещества. Высокие концентрации (3–5%) сГАГ, наряду с антипролиферативным действием, обладают скрытой слабой цитотоксичностью (отсроченный эффект).

**Ключевые слова:** гликозаминогликаны, кератансульфат роговицы, хондроитинсульфат, фибробласты

Исследованиям естественных регуляторов, способных модулировать процесс заживления раны — цитокинам, гликозаминогликанам (ГАГ), протеогликанам, посвящено большое количество работ [2–5, 16].

Каждая ткань или орган имеют свой характерный набор ГАГ. Ранее считалось, что функции ГАГ ограничиваются организацией межклеточного вещества (МКВ) [7].

В последнее время было показано, что ГАГ являются не только его структурными компонентами, но и регуляторами многих процессов, происходящих в клетках. Интенсивно изучается роль ГАГ, ассоциированных с клеточными мембранами [6], а также содержащихся в ядрах клеток и оргanelлах цитоплазмы [8, 9]. Им придается большое значение в межклеточном взаимодействии. ГАГ являются одним из факторов регуляции пролиферации и дифференциации клеток, блокирующих или запускающих механизмы митоза, участвуют в защите рецепторов на клеточной поверхности, во взаимодействии между клеткой и МКВ, в переносе молекул в клетку [9, 12, 13]. Различают несulfатированные ГАГ (гиалурионовая кислота) и сульфатированные ГАГ (сГАГ) (гепарин, гепарансульфат, кератансульфат, хондроитинсульфат, дерматансульфат). Доказано, что при стимуляции роста клеток в культурах увеличивается продукция гиалурионовой кислоты, а при контакт-

ном ингибировании в плотных культурах, напротив, ее содержание снижается и увеличивается продукция таких сГАГ, как хондроитинсульфат и гепарансульфат [1, 14].

Цель настоящего исследования — изучение регуляторного воздействия смеси сГАГ на пролиферацию фибробластов *in vitro*.

**Материал и методы** В работе использована оригинальная смесь сГАГ, которая представлена хондроитинсульфатами и кератансульфатом, выделенными из прозрачного неизмененного собственного вещества роговицы глаза свиньи (ООО НЭП «Микрохирургия глаза»).

При этом учитывалось, что роговица содержит самое большое количество короткоцепочечного кератансульфата, характеризующегося наличием стабильных щелочных связей между D-гликозамином и аспарагином. В составе основного вещества собственного вещества роговицы сГАГ прочно связаны с белками и имеют надмолекулярную структуру, позволяющую им после или при освобождении от белка (выделении в нативном виде) обладать максимальной способностью к образованию комплекса с вновь образуемыми белковыми макромолекулами в местах их синтеза [1].

В эксперименте исследована динамика изменения числа фибробластов мыши линии L929 в присутствии различных концентраций сГАГ от 0,1 до 5%.

Работа выполнена на базе ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В. И. Шумакова в центре по исследованию биоматериалов для искусственных органов (зав. испытательной лабораторией биологической безопасности медицинских изделий — д-р биол. наук Н. В. Перова, при участии канд. биол. наук В. А. Егоровой).

### Сведения об авторах:

Тахчиди Христо Периклович, Новиков Сергей Викторович, Шацких Анна Викторовна (e-mail: pathohist@mntk.ru), Тахчиди Елена Христовна, Горбунова Ксения Сергеевна, лаборатория патологической анатомии и гистологии глаза, ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздравсоцразвития России, 127486 Москва, Бескудниковский бульвар, 59А

Первый этап исследования был направлен на определение функционального эффекта различной концентрации растворов оригинальной субстанции смеси сГАГ.

Далее определяли свойства смеси сГАГ в гелевой форме. В качестве основы для образцов применяли 2% гидроксипропилметилцеллюлозу — нейтральный гель, не обладающий цитотоксическими свойствами, полностью резорбирующийся в биологических тканях в течение 24–72 ч в используемых нами объемах. Клетки высевали в культуральные плоскодонные 96-луночные планшеты из расчета 1000 кл./см<sup>2</sup> и инкубировали 24 ч во влажной атмосфере, содержащей 5±1% CO<sub>2</sub>, давая возможность клеткам прикрепиться и расплаться. Такие клетки оценивали с помощью бинокулярного инвертированного микроскопа Биолам П-1 (ЛОМО, Россия) при увеличении 100.

Через 24 ч культуральную среду в лунках заменяли на свежую и непосредственно на поверхность клеток добавляли исследуемый раствор или гель в изучаемой концентрации. На каждый образец — 4 лунки.

Планшеты продолжали инкубировать во влажной атмосфере, содержащей 5±1% CO<sub>2</sub>, определяя плотность расположения клеток через 24, 72, 96 и 144 ч.

Контролем служили лунки с клетками без добавления какого-либо образца.

Динамику роста культуры фибробластов мыши линии L929 оценивали с использованием автоматического цифрового иммерсионного конфокального микроскопа ConfoScan3 (Nidek Technologies, Япония) через указанные выше про-

межутки времени культивирования. Культуральную среду удаляли из лунок и промывали фосфатным буфером, затем клетки в лунках фиксировали 4% раствором параформальдегида в течение 24 ч.

Клетки окрашивали витальным красителем кристаллическим фиолетовым (0,2% раствор в 2% этиловом спирте), высушивали при комнатной температуре. Планшеты с зафиксированными окрашенными клетками закрепляли на держателе перед объективом микроскопа. В каждой лунке выбирали поле размером 0,0350 мм<sup>2</sup> и подсчитывали количество фибробластов с помощью программы NAVIS Cell Count для ConfoScan3 (Nidek Technologies, Япония).

**Результаты исследования.** Обнаружено, что во всех образцах прямой цитотоксический эффект отсутствует при разведении представленных растворов и гелей в 2, 4, 8, 10, 20 раз (время инкубации 24 ч).

Далее проводили определение функционального эффекта различных концентраций сГАГ в растворе. Через 144 ч в лунках, содержащих образцы с концентрацией активного вещества (КАВ) 0,1% и 0,5%, а также в контроле образовался монослой, поэтому эксперимент был прекращен. Через 144 ч в лунках, содержащих растворы с КАВ 1, 2, 3, 5%, плотность расположения клеток последовательно

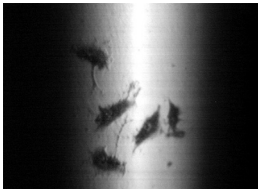
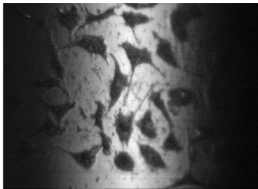
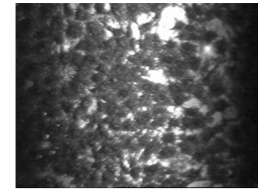
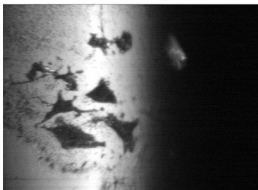
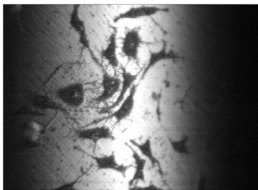
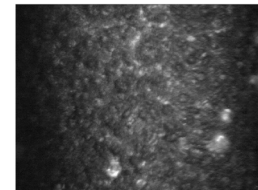
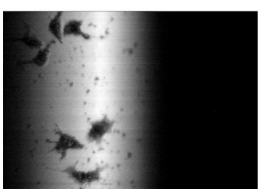
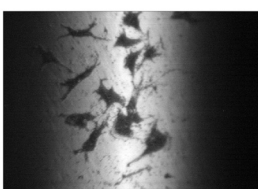
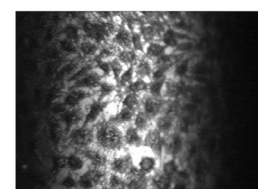
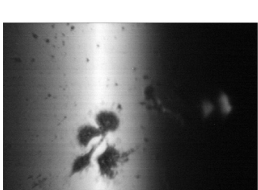
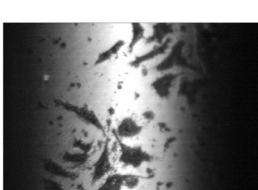
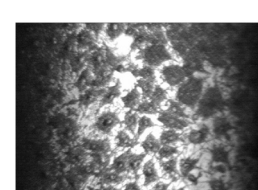
| Концентрация активного вещества | Время инкубации                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 | 24 ч                                                                                | 72 ч                                                                                 | 144 ч                                                                                 |
| Контроль (полистирол)           |  |  |  |
| 0,5%                            |  |  |  |
| 1%                              |  |  |  |
| 5%                              |  |  |  |

Рис. 1. Динамика изменений количества фибробластов мыши линии L929, культивированных в присутствии исследуемых образцов растворов сульфатированных гликозаминогликанов и контроля — культурального полистирола.

Конфокальная микроскопия. Окраска кристаллическим фиолетовым. Ув. 400.

Таблица 1

**Зависимость плотности расположения фибробластов мыши линии L929 от времени инкубации с исследуемыми образцами растворов сульфатированных гликозаминогликанов ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , кл./мм<sup>2</sup>)**

| Время инкубации, ч | Полистирол (контроль) | Концентрация активного компонента в растворе, % |         |         |        |        |        |
|--------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|---------|---------|--------|--------|--------|
|                    |                       | 0,1                                             | 0,5     | 1       | 2      | 3      | 5      |
| 24                 | 128±17                | 123±16                                          | 185±20  | 135±14  | 104±17 | 116±5  | 97±10  |
| 72                 | 304±17                | 204±25                                          | 275±16  | 247±16  | 190±16 | 202±4  | 183±21 |
| 144                | 1228±22               | 1099±25                                         | 1401±26 | 1000±22 | 870±18 | 664±21 | 619±22 |

уменьшалась (табл. 1). Наилучший рост количества фибробластов наблюдали в присутствии образцов с КАВ 0,1% и 0,5%. При этом количество клеток в образце с концентрацией 0,5% превосходило количество клеток в контроле.

Начиная с образца с концентрацией 1%, наблюдалось подавление роста клеток. Медленнее всего фибробласты росли в присутствии образцов с КАВ 3% и 5% (рис. 1). К 6-м суткам инкубации в лунках, содержащих образцы с высокими КАВ, появились включения фрагментов разрушенных клеток, клетки уменьшались в размерах (рис. 2), сглаживались контуры ядер.

Эксперимент был повторен с применением гелевой формы сГАГ. Контролем служили лунки с клетками без добавления какого-либо образца и дополнительно с добавлением индифферентного геля (0% сГАГ). Через 24 ч после добавления в культуру фибробластов образцов сГАГ наблюдалась повышенная плотность расположения клеток в контроле и в присутствии образцов, содержащих низкие КАВ (0,1% и 0,5%). Через 96 ч существенных визуальных различий в плотности расположения клеток в присутствии всех образцов, кроме максимальной (5%), не наблюдалось (рис. 3), поэтому эксперимент был прекращен. В присутствии образца с максимальной концентрацией

сГАГ (5%) плотность расположения фибробластов была наименьшей (см. рис. 3, табл. 2).

Наилучший рост фибробластов через 24 ч наблюдался в присутствии образцов сГАГ с малой КАВ (0,1, 0,5%) и 0% гель-контролем, несмотря на то, что через 72 ч количество клеток в присутствии образцов 0% гель-контроль и 0,1% было значительно меньше по сравнению с контролем (полистирол) и образцом с КАВ 0,5%. Через 96 ч плотность расположения клеток в этих образцах стала одинаковой. В лунках с концентрацией сГАГ 1% наблюдали постепенное плавное подавление пролиферации фибробластов. Начиная с образца с КАВ 2%, подавление роста клеток было лучше заметно в поздние сроки. Медленнее всего фибробласты росли в присутствии образцов с КАВ 5%, при этом часть клеток были деформированы и отличались по форме и размерам от таковых в контроле.

**Обсуждение полученных данных.** В настоящее время выделяют два пути регуляции клеточной пролиферации с участием ГАГ. Непрямой путь — посредством связи с факторами роста или другими регулируемыми рост системами [6, 14]. ГАГ могут также контролировать пролиферацию клеток путем прямого воздействия

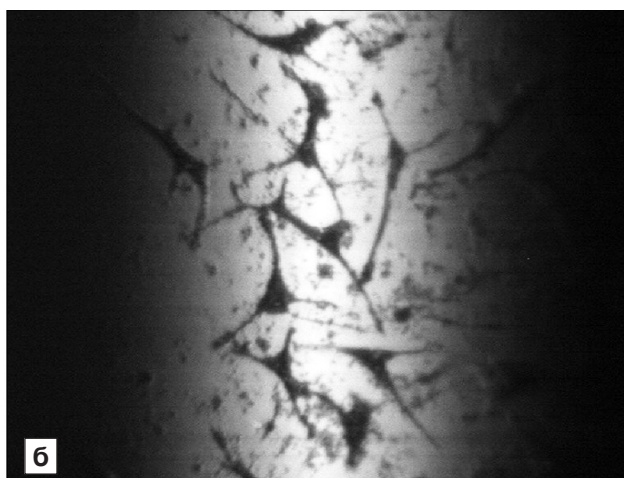


Рис. 2. Различия формы и размеров фибробластов мыши линии L929 в контроле (а) и при культивировании в присутствии 3% раствора сульфатированных гликозаминогликанов (б).

Время инкубации 72 ч. Конфокальная микроскопия. Окраска кристаллическим фиолетовым. Ув. 400.



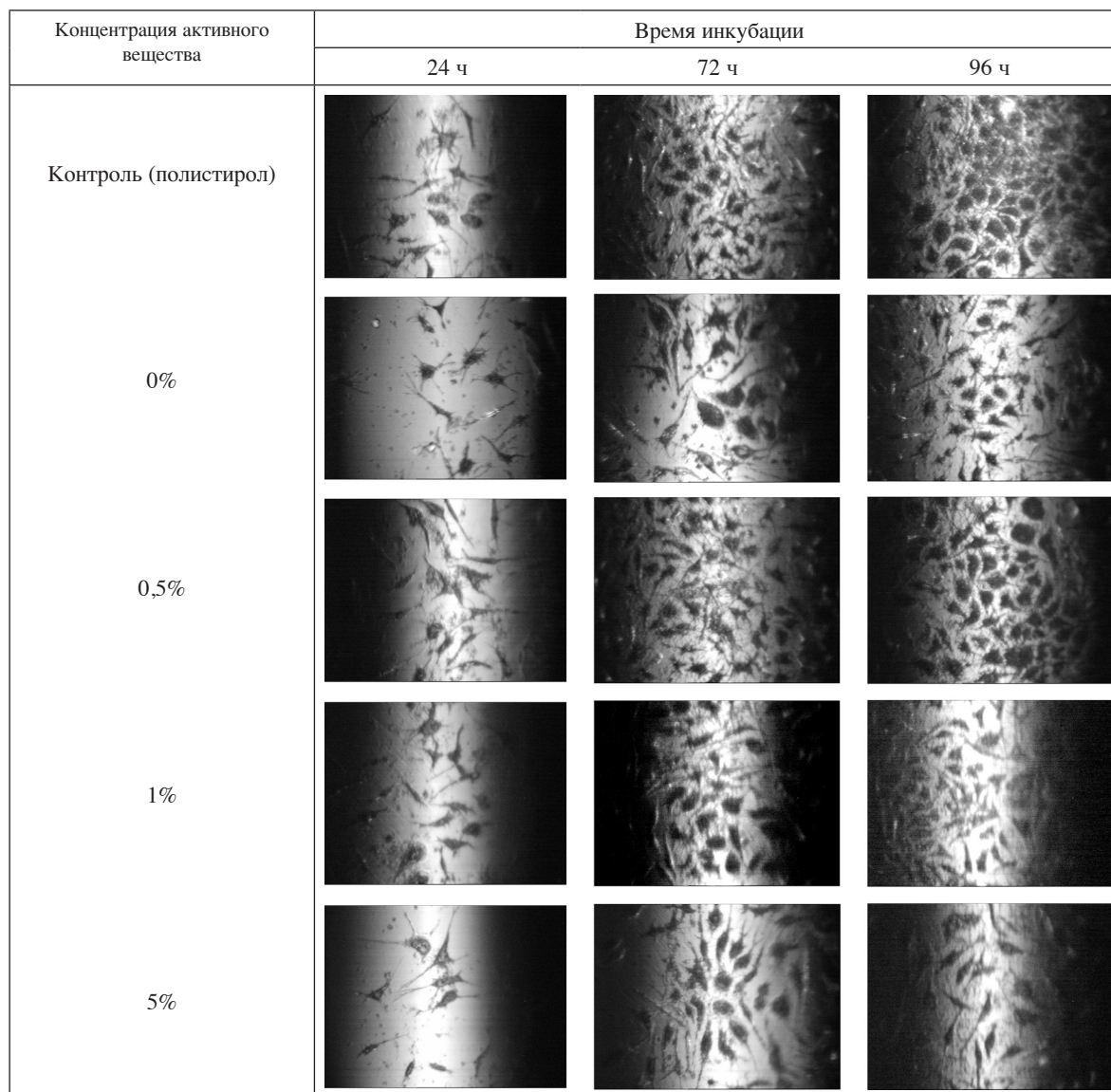


Рис. 3. Динамика изменений количества фибробластов мыши линии L929, культивированных в присутствии гелевой формы сульфатированных гликозаминогликанов и контроля — культурального полистирола.

Конфокальная микроскопия. Окраска кристаллическим фиолетовым. Ув. 400.

Таблица 2

**Зависимость плотности расположения фибробластов мыши линии L929 от времени инкубации с исследуемыми образцами гелей сульфатированных гликозаминогликанов ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , кл./мм<sup>2</sup>)**

| Время инкубации, ч | Полистирол (контроль) | Концентрация активного компонента в геле, % |        |        |        |        |        |        |
|--------------------|-----------------------|---------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                    |                       | 0                                           | 0,1    | 0,5    | 1      | 2      | 3      | 5      |
| 24                 | 300±16                | 183±15                                      | 220±26 | 250±17 | 143±18 | 170±18 | 202±8  | 130±10 |
| 72                 | 760±15                | 470±9                                       | 500±20 | 705±16 | 402±15 | 515±21 | 513±13 | 400±13 |
| 96                 | 880±22                | 784±16                                      | 790±18 | 810±10 | 607±16 | 599±15 | 602±19 | 470±14 |

или посредством продуктов их распада на рецепторные структуры, связанные с клеточной сигнальной системой. При повреждении тканей ГАГ отделяются от своей белковой основы, и образуются олигосахариды. Такой биоактивный материал может быть частью саморегулирующей системы: связываясь с рецепторами на поверх-

ности клетки либо транспортируясь в ядро и там оказывая регулирующее влияние на рост [1, 8].

Результаты нашего исследования показали, что экзогенно вводимые сГАГ оригинальной смеси могут встраиваться в процесс регуляции клеточного роста: низкие концентрации сГАГ 0,1% и 0,5% способны стимулировать пролифе-

рацию фибробластов, а при применении высоких концентраций сГАГ (1–5%) наблюдается обратная зависимость — плотность расположения клеток уменьшается с возрастанием концентрации сГАГ, что свидетельствует о торможении этого процесса. Следовательно, изучаемая смесь сГАГ дает бимодальный эффект. Это согласуется с данными ряда ранних работ, в которых были изучены преимущественно хондроитинсульфаты.

В эксперименте С. Westergren-Thorsson и соавт. [15] показано как стимулирующее, так и ингибирующее влияние экзогенно введенных ГАГ на рост клеток фибросаркомы *in vitro* в различных условиях (добавление факторов роста, плазменных митогенов).

Такой же результат был получен в работе А. Syrokou и соавт. [10]. При исследовании *in vitro* ими было обнаружено ингибирующее действие ГАГ на пролиферацию клеток злокачественной мезотелиомы и выявлено, что хондроитинсульфат и дерматансульфат оказывают сильное стимулирующее дозозависимое действие на фибробластоподобные клетки. Нами впервые доказан бимодальный эффект смеси хондроитинсульфатов с кератансульфатом.

При изменении формы исследуемых образцов сГАГ с раствора на гель их действие сохраняется. Применением гелевой формы достигается необходимая КАВ в малом объеме, такая форма способствует пролонгации действия активного вещества. Одним из доказательств сказанного служит то, что в растворе с КАВ 0,1, 0,5% и в контроле образовался монослой фибробластов через 144 ч, а в гелевой форме с аналогичными концентрациями — через 96 ч.

Высокие КАВ (2–5%) в образцах вызывали более выраженный антипролиферативный эффект, чем в лунках с 1% образцом сГАГ. Только сравнение результатов на завершающей стадии эксперимента позволило подтвердить постепенное подавление пролиферации фибробластов при 1% концентрации сГАГ.

Для сГАГ с КАВ от 0,1 до 2,0% цитотоксичности за время исследования не выявлено.

При применении высоких концентраций сГАГ (3–5%) как в растворе, так и в гелевой форме, к 6-м суткам проявляется цитотоксический эффект, возможно, связанный с длительным пребыванием высокой концентрации сГАГ в образце и скрытой, хотя и слабой цитотоксичностью с постепенным нарастанием к явной.

Таким образом, используя оригинальную смесь сГАГ с учетом ее бимодальных свойств, можно улучшать репарацию при заживлении ран, применяя низкие концентрации, и предотвращать грубое рубцевание при помощи высоких ее кон-

центраций, что было нами отмечено при проведении серий экспериментов *in vivo* [11].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Серов В. В. и Шехтер А. Б. Соединительная ткань. М., Медицина, 1981.
2. Ходжаев Н. С., Нерсесов Ю. Э. и Захидов А. Б. Антипролиферативный эффект локальной цитокинотерапии в экспериментальной модели антиглаукоматозной операции. В кн.: Материалы VIII Науч.-практ. конф. с междунар. участием «Федоровские чтения». М., 2009, с. 225–226.
3. Хорошилова-Маслова И. П., Ганковская Л. В., Андреева Е. Д. и др. Ингибирующее влияние комплекса цитокинов на заживление ран после глаукомофильной операции в эксперименте. Вестн. офтальмол., 2000, № 1, с. 5–8.
4. Anisimov S. I., Anisimova S. Y. and Rogachova I. V. Angular-veal drainage with biological implant from osteal collagen with glycosaminoglycans and viscoelastic material for surgical treatment of refractory glaucoma. 6th Intern. Glaucoma Symp. Athens. 2007, Book of abstracts., p. 60.
5. Colwell A. S., Phan T. T., Kong W. et al. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. Plast. Reconstr. Surg., 2005, v. 116, № 5, p. 1387–1390, disc. p. 1391–1392.
6. David G. Integral membrane heparan sulfate proteoglycans. FASEB J., 1993, v. 7, № 11, p. 1023–1030.
7. Grossfeld H., Meyer K., Godman G. and Linker A. Mucopolysaccharides produced in tissue culture. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1957, v. 3, № 3, p. 391–396.
8. Kolset S. O., Prydz K. and Pejler G. Intracellular proteoglycans. Biochem. J., 2004, v. 379, Pt 2, p. 217–227.
9. Kurtz M. J. and Stidworthy G. H. Control over acid mucopolysaccharide production of cells in vitro. Biochim. Biophys. Acta., 1975, v. 399, № 1, p. 90–100.
10. Syrokou A., Tzanakakis G., Tseggenidis T. et al. Effects of glycosaminoglycans on proliferation of epithelial and fibroblast human malignant mesothelioma cells: a structure-function relationship. Cell Prolif., 1999, v. 32, № 2–3, p. 85–99.
11. Takhchidi K. P., Novikov S. V., Takhchidi E. K. and Shatskich A. V. Biomodal effect of sGAG action in vitro and in vivo considering a specific example of sclera wound healing. 17th Congr. Europ. Soc. Ophthalmol. Abstract book. Amsterdam, 2009, p. 14.
12. Tkachenko E., Rhodes J. M. and Simons M. Syndecans: new kids on the signaling block. Circ. Res., 2005, v. 96, № 5, p. 488–500.
13. Trowbridge J. M. and Gallo R. L. Dermatan sulfate: new functions from an old glycosaminoglycan. Glycobiology, 2002, v. 12, № 9, p. 117R–125R.
14. Volpi N. Therapeutic applications of glycosaminoglycans. Curr. Med. Chem., 2006, v. 13, № 15, p. 1799–1810.
15. Westergren-Thorsson G., Persson S., Isaksson A. et al. L-iduronate-rich glycosaminoglycans inhibit growth of normal fibroblasts independently of serum or added growth factors. Exp. Cell. Res., 1993, v. 206, № 1, p. 93–99.
16. Zhang Z., Li X. J., Liu Y. et al. Recombinant human decorin inhibits cell proliferation and downregulates TGF-beta1 production in hypertrophic scar fibroblasts. Burns, 2007, v. 33, № 5, p. 634–641.

Поступила в редакцию 14.02.2012  
Получена после доработки 14.06.2012

## FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF SULFATED GLYCOSAMINOGLYCAN COMPLEX FOR THE CONTROL OF FIBROBLAST PROLIFERATION IN VITRO

*Kh.P. Takhchidi, S. V. Novikov, A. V. Shatzkikh,  
Ye. Kh. Takhchidi and K. S. Gorbunova*

The effect of an original sulfated glycosaminoglycan (sGAG) mixture (keratan sulfate with chondroitin sulfate) was examined in the *in vitro* experiment with the cell culture of murine fibroblasts (cell line L929). Two forms (solution and gel) of the active substance were tested in different concentrations (0.1–5.0%). The growth dynamics of fibroblasts in culture was traced for

the periods up to 144 h using the automated digital immersion confocal microscope. The study of the original sGAG mixture demonstrated the bimodal effect: low concentrations (0.1–0.5%) stimulated the proliferation of fibroblasts, while high concentrations (1–5%) possessed an antiproliferative effect. Changes of the form (solution or gel) had no effect on the functional properties of the mixture. High sGAG concentrations (3–5.0%), along with the antiproliferative effect, had a hidden weak cytotoxic action (a delayed effect).

**Key words:** *glycosaminoglycans (GAG), corneal keratan sulfate, chondroitin sulfate, fibroblasts*

Laboratory of Eye Pathological Anatomy and Histology, S. N. Fyodorov «Eye Microsurgery» Intersectoral Scientific-Technological Complex, Moscow

© Г. С. Шишкин, Н. В. Устюжанинова, 2012  
УДК 611.24-055.1(571.14-81)

*Г. С. Шишкин и Н. В. Устюжанинова*

## ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛЕГОЧНОГО АЦИНУСА У ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Лаборатория физиологии дыхания (зав. — д-р мед. наук О. В. Гришин), ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАМН, г. Новосибирск

Архитектоника и параметры ацинуса легких изучены у 6 мужчин в возрасте 19–27 лет, постоянно проживавших в г. Новосибирске. Исследование проводили на серийных гистологических срезах с использованием морфометрии и объемной графической реконструкции ацинусов. Установлено, что в типичном ацинусе у них определяются 3 порядка ветвления респираторных бронхиол, 4 — альвеолярных ходов и 1 — альвеолярных мешочков (АМ). Все внутриацинарные ходы ветвятся в форме дихотомии, чаще неправильной. Показано, что ацинусы закономерно асимметричны, 32% ветвей альвеолярных ходов второго порядка не имеют продолжения и заканчиваются АМ, от  $2/3$  альвеолярных ходов третьего порядка также отходят АМ, т.е. около 40% ветвей рудиментированы. Внутриацинарная дорожка от первых альвеол в респираторной бронхиоле до терминальных альвеол составляет  $7,2 \pm 1,0$  мм. Особенностью ацинуса жителей Западной Сибири является увеличение транзитной зоны и смещение респираторной зоны на один порядок ветвления в дистальном направлении от воздухоносных путей, что уменьшает её охлаждение при дыхании холодным воздухом в зимнее время года.

**Ключевые слова:** *ацинус легких человека, микроструктуры ацинуса, транзитная и респираторная зоны*

Детальное строение легочных ацинусов с определением архитектоники и параметров их микроструктур было изучено в основном у животных — мышей, крыс, кроликов [12, 13, 16]. Современные морфологические представления о строении легочного ацинуса у человека, как системы ветвящихся ходов и соединённых с ними альвеол, базируются исключительно на исследовании лёгких у людей из Центральной Европы и Северной Америки [3, 4, 6, 8, 14, 15]. При этом авторы не единодушны в выборе критериев разделения ацинарных структур на респираторные

бронхиолы, альвеолярные ходы (АХ) и альвеолярные мешочки (АМ).

После работ Э. Вейбеля [1, 17, 18], который исследовал легочный ацинус у человека и постулировал дихотомическую схему ветвления микроструктур, других исследований такого объема фактически не было. Полностью отсутствуют сведения о структурных особенностях, архитектонике, объемах ацинарных структур у жителей разных климато-географических регионов.

Цель настоящей работы — изучение особенностей строения лёгочного ацинуса у жителей

### Сведения об авторах:

Шишкин Геннадий Сергеевич, Устюжанинова Нина Витальевна (e-mail: nvu@physiol.ru), лаборатория физиологии дыхания, ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАМН, 630117 Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4