

Экспериментально-клинические исследования возможности ЭХЛ в лечении злокачественных опухолей

Каплан М.А., Медведев В.Н., Киселева М.В., Малик С.С., Капинус В.Н., Горанская Е.В., Михайловская А.А., Таибова М.В., Фомин С.Д.

Учреждение Российской академии медицинских наук
Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

В эксперименте на модели саркомы М-1 оценена противоопухолевая эффективность электрохимического лизиса (ЭХЛ), исследованы различные сочетания параметров ЭХЛ (сила тока, время воздействия). При оценке результатов оказалось, что с увеличением параметров ЭХЛ растет процент полной регрессии опухолей, что было подтверждено исследованиями морфологических срезов. В клинике при проведении только ЭХЛ пациентам, страдающим раком молочной железы, получен лечебный патоморфоз 3 стадии. За время наблюдения данных о метастазировании не получено.

Ключевые слова: электрохимический лизис, саркома М-1, рак.

Введение

В последние годы разрабатываются новые технологии малоинвазивного лечения новообразований. Один из них – электрохимический лизис (ЭХЛ), основными достоинствами которого являются малая травматичность окружающих тканей, отсутствие гипертермии в зоне лечения и возможность многократного применения [1, 2, 4].

Исследования по изучению влияния электрохимического воздействия на опухолевую ткань проводились в разных странах. Основоположником метода электрохимического лизиса считается Берн Норденстром, который еще в 1977 г. предположил, что опухоли легкого обладают определенными электрическими свойствами. Опытным путем он доказал, что некоторые опухоли имеют электрический заряд, с отрицательно заряженным центром и положительно заряженным периметром. На основании результатов данной работы исследователь предположил, что приложение положительного заряда к центру опухоли может поменять уровень внутриклеточного рН и разрушить «опухолевую батарею», что приведет к лизису опухолевой ткани. Данный вид воздействия автор назвал «электрохимической терапией» (ЭХТ). Б.Норденстром применил метод электрохимической терапии у 25 пациентов с использованием слабого тока и чрескожных электродов, введенных в опухоль. У некоторых из пациентов была достигнута резорбция опухоли, у остальных отмечена стабилизация процесса. Австрийский ученый Рудольф Пекар, опираясь на результаты работ Б.Норденстрома, совершенствовал метод гальванотерапии и успешно применил его для лечения больных онкологическими заболеваниями.

На сегодняшний день метод применяется для лечения новообразований в Германии, Италии, Австрии, Дании, Китае, России [5, 6].

При использовании электротерапии у 413 пациентов на базе Кельнского института органо-биотерапии, в зависимости от локализации злокачественного новообразования и стадии за-

Каплан М.А. – зав. отделом, д.м.н., профессор; Медведев В.Н. – зав. отделением, к.м.н.; Киселева М.В. – зав. отделением, д.м.н.; Малик С.С. – врач, к.м.н.; Капинус В.Н. – врач, к.м.н.; Горанская Е.В.* – научный сотрудник; Михайловская А.А. – научный сотрудник; Таибова М.В. – врач; Фомин С.Д. – врач. МРНЦ РАМН.

* Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: (48439) 9-30-26; e-mail: Kaplan@mrrc.obninsk.ru.

болевания, процент наблюдений полной регрессии опухоли колебался от 3,8 до 19,6, частичной – от 64,3 до 92,4. При динамическом наблюдении в сроки от 5 лет и более было отмечено отсутствие рецидива заболевания у всех пациентов, относящихся к группе больных с полной регрессией новообразования.

Самый многочисленный опыт применения ЭХЛ был у китайских ученых, в частности у профессора Xin Yu-Ling, который объединил опыт 168 клиник по использованию ЭХЛ в лечении злокачественных опухолей различной локализации, например: пищевод – 1595 пациентов; легкие – 1113; кожа – 958; молочная железа – 664; голова, лицо – 598; поверхностные лимфатические узлы – 361; щитовидная железа – 250; ротовая полость – 138; влагалище – 237 и т.д. Пролечено 2516 пациентов с различными опухолевыми заболеваниями, из них 664 пациентки с раком молочной железы (РМЖ), полной регрессии удалось достигнуть в 27,1 % случаев, частичной – в 28,5 %, стабилизации – в 20,5 %, прогрессирование наблюдалось в 3,1 % случаев, при этом пятилетняя выживаемость составила 50 % [4, 6].

Химико-физические принципы электрохимического лизиса

Электрохимический лизис – это форма абляции, достигающая деструкции ткани путем использования постоянного тока. Прохождение постоянного тока через биологические ткани сопровождается физико-химическими сдвигами, лежащими в основе деструкции опухолей. Среди них наиболее значимы:

1. Ионные сдвиги;
2. Электрическая поляризация;
3. Биоэлектрический эффект.

Ионные сдвиги. Прохождение постоянного тока между электродами сопровождается целенаправленным перемещением заряженных частиц: положительно заряженные ионы движутся по направлению к катоду, отрицательно заряженные ионы – к аноду. Перемещение H-ионов к катоду, а OH-ионов к аноду сопровождается изменением кислотно-основного состояния в тканях. На аноде возникает кислая среда (pH 1-2), на катоде – щелочная (pH 12-14) (рис. 1). Сдвиги pH отражаются на деятельности ферментов, тканевом дыхании, состоянии биокolloидов, определяющем функциональное состояние клетки.

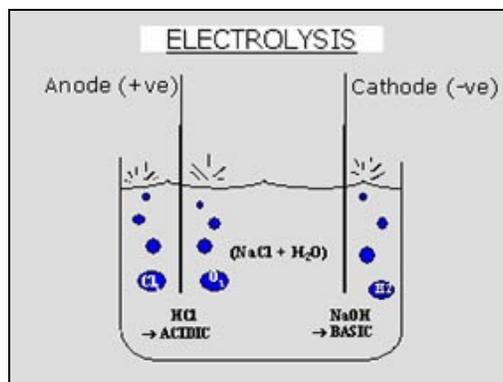


Рис. 1. Механизм действия электрохимического лизиса.

При ЭХЛ происходит электроосмос – вследствие перемещения жидкости под катодом наблюдается отек и разрыхление клеток, под анодом – сморщивание и уплотнение клеточных оболочек.

Изменение электролитного состава внутри- и внеклеточной жидкости ведет к изменению трансмембранного потенциала, что сопровождается нарушением функционирования клеточной мембраны, а в частности нарушением функции К-Na-насоса, что ведет к нарушению клеточного гомеостаза.

Электрическая поляризация – это скопление у мембран противоположно заряженных ионов с образованием электродвижущей силы, имеющей направление обратно приложенному напряжению. Наиболее важными видами в электрической поляризации в применении воздействия постоянного тока являются:

- электронная поляризация – смещение электронов на своих орбитах относительно ядер в атомах и ионах,
- ионная поляризация – смещение ионов в кристаллической решетке,
- дипольная поляризация – ориентация свободных полярных молекул под воздействием внешнего поля,
- макроструктурная поляризация связана с неоднородностью электрических свойств ткани: при наличии хорошо и плохо электропроводящих слоев свободные ионы перемещаются в пределах хорошо электропроводной части и накапливаются у ее границы,
- поверхностная поляризация происходит на поверхностях, имеющих двойной электрический слой, при наложении внешнего поля частицы дисперсной фазы и ионы диффузного слоя смещаются в различные стороны.

Биологическое значение поляризации заключается в том, что она сказывается на дисперсности коллоидов протоплазмы, гидратации клеток, процессах диффузии и осмоса, изменении соотношения свободных и связанных ионов. Затухает поляризация от минут до суток, с чем связано длительное последствие постоянного тока.

Биоэлектрический эффект. Биологическим объектам, кроме вынужденной присуща естественная неравновесная поляризация. Она является структурной основой так называемого биоэлектрического состояния тканей. Биоэлектрическое состояние тканей выявляется по способности их в процессе жизнедеятельности генерировать относительно сильное электрическое поле вследствие возникновения некомпенсированного электрического заряда в биологической структуре. Согласно экспериментальным данным электростатическое поле опухолевой ткани имеет свои качественные характеристики. Исследования показывают, что некоторые воздействия, в частности постоянный ток и ультразвук, существенно влияют на качественные характеристики биоэлектрического поля и могут приводить к его нивелированию.

При ЭХЛ происходит увеличение фагоцитарной активности лейкоцитов, стимуляция ретикулоэндотелиальной системы, повышается активность гуморальных факторов неспецифического иммунитета, усиливается выработка антител, происходит высвобождение опухолевых антигенов с последующим их распознаванием клетками иммунной системы.

Таким образом, основная роль в механизме немедленной деструкции опухолевой ткани при ЭХЛ принадлежит процессам электролиза, характеризующимся смещением pH, что приводит к гибели ткани. Роль остальных механизмов (электроосмос, нарушение работы K-Na насоса, электрическая поляризация, биоэлектретный эффект, иммунобиологические реакции) вторична, однако не менее важна, особенно в отношении оставшихся гипотетически жизнеспособных опухолевых клеток, как в центре, так и расположенных по периферии опухолевого очага. Ценность данных механизмов также заключается в их длительном последствии [1, 4].

Материалы и методы

Электрохимический лизис образований проводился на аппарате «ECU-300» немецкой фирмы «Soring» (рис. 2), имеющий три независимых, гальванически отделенных друг от друга канала. В лечении использовались монополярные платиновые электроды, всего аппарат поддерживает до 12 электродов (3 канала по 4 электрода), что позволяет проводить лечение образований различного размера. Длину активной дистальной части электродов можно регулировать с помощью пластиковых канюль и вставок в пределах от 10 до 90 мм. Канюли вводятся в ткани с помощью троакаров. Число вводимых электродов примерно равно наибольшему диаметру опухоли в сантиметрах (1 электрод на 1 см наибольшего диаметра опухоли), расстояние между ними должно быть не более 2 см, длина активной части соответствует протяженности очага. Здоровая ткань отграничивается от активной части электрода с помощью изоляционной канюли. Электроды не должны соприкасаться и должны располагаться не ближе 1,5 см от крупных сосудов.

Исследование состояло из двух этапов: экспериментального и клинического.

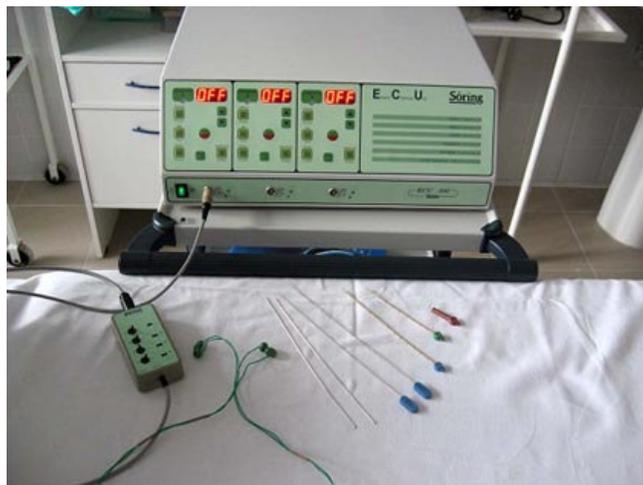


Рис. 2. Аппарат «ECU-300» (Германия, «Soring»).

Экспериментальный этап. Для опыта использовалась экспериментальная модель – саркома М-1, количество животных составило 108 крыс. Опухоль перевивалась на бедро крысы. На 10-11 сутки, после того, как образование достигало 1 см, животных брали в опыт.

С целью изучения влияния электрохимического лизиса на рост саркомы М-1 было задействовано по 2 электрода: анод, катод (рис. 3) и исследованы результаты сочетания различных величин времени воздействия и силы тока – от 10 мА до 30 мА, от 10 до 15 мин.

В качестве контроля использовались животные с опухолями, которым не проводилось никакого лечения.



Рис. 3. ЭХЛ в эксперименте.

Результаты

В эксперименте проводилась оценка прироста и полной регрессии опухоли.

Первая группа состояла из 12 животных. Параметры проведения ЭХЛ: сила тока – 10 мА, экспозиция – 10 мин, накопленный заряд – 6 Кулон. Ни у одного животного не наблюдалось полной регрессии опухоли. Коэффициент абсолютного прироста на всех сроках наблюдения в 5-6,5 раз был ниже, чем в контроле.

Вторая группа (9 крыс) отличалась лишь по времени проведения процедуры – 15 минут. Накопленный заряд в этом случае составлял уже 9 Кулон. К концу эксперимента полная регрессия отмечалась у 17 % от общего числа наблюдений. Коэффициент продолженного роста был в 5 раз ниже контрольного значения.

Третья группа животных состояла из 21 крысы. Лечение проводилось при параметрах: 20 мА, 10 мин (заряд 12 Кл). К 21-м суткам наблюдения процент полной регрессии составил 35.

В четвертой группе (8 животных) увеличение времени воздействия (20 мА, 15 мин) не привело к значимым изменениям. Рост опухоли продолжался у трех крыс, три погибли, у двух опухоль не пальпировалась. Таким образом, полная регрессия наблюдалась в 40 % случаев. Коэффициент продолженного роста был в 6 раз ниже контрольного значения.

В пятую группу были включены 14 животных. Условия проведения ЭХЛ: 30 мА, 10 мин (заряд – 18 Кл). Полная регрессия наблюдалась к 21-м суткам у 7 животных, что составляло 58 %. К концу срока наблюдения погибло 2 крысы. У пяти животных с продолженным ростом опухоли коэффициент был в 5 раз ниже, чем средний в контрольной группе.

И, наконец, 9 опытных животных из шестой группы подвергались электрохимическому воздействию при силе тока 30 мА и экспозиции 15 мин. К 21 суткам полную регрессию опухоли выявили у 6 крыс (75 %). Одно животное с полной регрессией опухоли пало на 14 день.

Очень важная особенность заключается в том, что в пятой и шестой группах полная регрессия опухоли наблюдалась параллельно с глубокими повреждениями мышечных слоев. Если в первых четырех группах к концу опыта у животных с полной регрессией наблюдался хороший косметический эффект после отторжения струпа, то здесь были незаживающие язвенные воспаления (рис. 4).

Представленные диаграммы демонстрируют, что проведение электрохимического лечения при параметрах 10-30 мА, 10 и 15 мин дает торможение роста опухолей в опытных группах по сравнению с контрольной группой. При этом увеличение силы тока и времени воздействия приводит к возрастанию процента полной регрессии опухолевого узла.

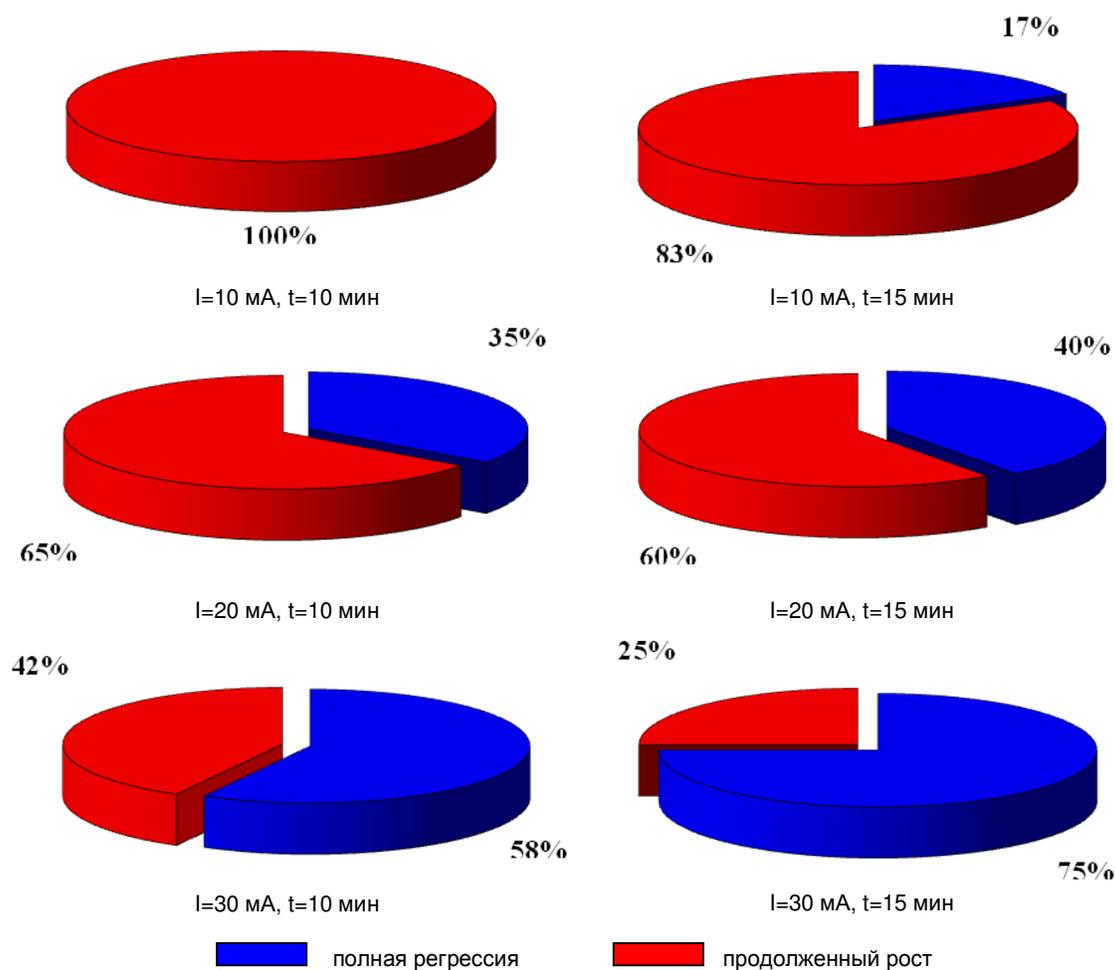


Рис. 4. Показатели процента полной регрессии опухолей при ЭХЛ в зависимости от параметров на 21 сутки наблюдения.

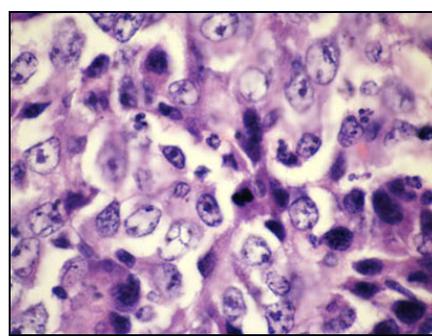
Обоснование клинического этапа

Экспериментальное исследование подтверждает эффективность электрохимического лизиса в лечении опухолевого процесса. В 75 % случаев достигнута полная регрессия в эксперименте на животных.

Результаты представленных морфологических исследований показывают, что воздействие ЭХЛ на экспериментальные опухоли вызывает их некроз, степень выраженности которого зависит от режима воздействия (рис. 5, 6). Повреждающее действие ЭХЛ реализуется не только посредством деструкции паренхимы опухоли, но и ее сосудистой сети, особенно развитой в подкожной клетчатке. Это отрицательное воздействие на сосуды преобладает в области расположения катода.



а) Некротизированная часть опухоли ограничена лейкоцитарным валом



б) Ближе к эпителиальному покрову поверхностный слой опухоли сохранен

Рис. 5. Морфологические изменения саркомы М-1 на 21 сутки после ЭХЛ (10 мА, 10 мин).

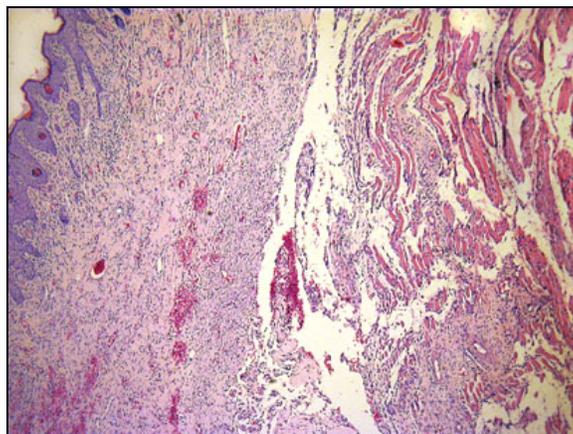


Рис. 6. Морфологические изменения саркомы М-1 на 21 сутки после ЭХЛ (30 мА, 15 мин). Клетки опухоли не обнаружены.

По литературным данным при лечении метастазов печени удается достигнуть полного и частичного ответа в 50-60 % случаев, в 20 % – удается достигнуть стабилизации. В случае прогрессирования возможно повторное проведение сеанса ЭХЛ [1, 2, 4]. При лечении рака молоч-

ной железы частота полных и частичных ответов составляет 70-75 %, в 10-15 % удается достигнуть стабилизации процесса (при этом 50 % пациенток имели III стадии заболевания) [1]. При проведении ЭХЛ за счет захвата окружающей опухоль ткани происходит повреждение окружающих кровеносных и лимфатических сосудов, что препятствует диссеминации. При повреждении клеток происходит активации защитных механизмов-макрофагов, Т-4 лимфоцитов, цитокинов и интерферонов.

Клинический этап

В клиническое исследование было включено 32 пациентки, страдающие раком молочной железы. Заболеваемость раком молочной железы (РМЖ) в России, как и в большинстве стран Европы и Северной Америки, растет. Рак молочной железы занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости в нашей стране с 1985 г., имея постоянную тенденцию к росту. В мире выявляется около 1 млн новых случаев РМЖ, а к 2010 г. прогнозируется рост числа заболевших до 1,45 млн. В настоящее время в России ежегодно регистрируется более 50 тыс. новых случаев рака молочной железы (50292 – 2006 г.) и более 22 тыс. смертей (2004-2006 гг.). При этом процент прироста за 10 лет (с 1997 по 2006 гг.) составил 24,6 % [3].

ЭХЛ проводился на первом этапе, далее пациентки получали традиционное лечение согласно рекомендациям ESMO.

Перед лечением была проведена трепанобиопсия для верификации заболевания.

Первичные больные были представлены следующими стадиями процесса:

I стадия – 2 пациентки –	$T_1N_0M_0$;
II стадия – 18 больных –	$T_1N_1M_0(4)$; $T_2N_0M_0(9)$; $T_2N_1M_0(4)$; $T_3N_0M_0(1)$;
III стадия – 8 человек –	$T_2N_2M_0(1)$; $T_3N_1M_0(2)$; $T_3N_2M_0(1)$; $T_4N_0M_0(1)$; $T_4N_1M_0(1)$; $T_2N_3M_0(1)$; $T_3N_3M_0(1)$.

ЭХЛ проводился на мягкотканые образования передней грудной стенки трем пациенткам с прогрессированием заболевания и отдаленными метастазами.

При морфологическом исследовании в 4 случаях выявлен дольковый рак, у трех пациенток – протоковый, в 16 случаях имел место инфильтрирующий протоковый рак, в 6 – инфильтрирующий дольковый, в одном случае – сочетание долькового и протокового рака, в одном случае – инфильтрирующий дольковый и протоковый рак, у одной пациентки – медуллярный рак.

В 19 случаях проведено иммуногистохимическое исследование: в 15 случаях опухоли были гормоноположительные, в 4 – гормононегативные, в 1 случае выявлена гиперэкспрессия с амплификацией гена Her-2/neu.

После подробного разъяснения процедуры и возможных осложнений у всех 32 пациенток получено информированное согласие. ЭХЛ проводили на первом этапе комбинированного или комплексного лечения рака молочной железы. Электроды вводили под местной инфильтрационной анестезией, с предшествующей премедикацией, под контролем ультразвукового исследования (рис. 7).



Рис. 7. Процедура электрохимического лизиса.

При лечении были использованы следующие параметры ЭХЛ: I (сила тока) – от 50 до 80 мА, время – от 25 до 40 мин, заряд – от 2100 до 3200 Кулон, число электродов – от 4 до 10, что зависело от размера опухолевого очага. Процедура переносилась хорошо, у некоторых пациенток отмечались болезненность и покалывание при подаче и отключении тока.

Результаты

Непосредственно после ЭХЛ у всех пациенток при визуальном осмотре отмечался отек подлежащих и окружающих тканей. При пальпации молочных желез отмечалось сглаживание контуров опухолевого узла, изменение его консистенции на менее плотную, а также крепитация и выделение пузырьков газа. При УЗ-исследовании, выполненном непосредственно после процедуры ЭХЛ, у всех пациенток образование не визуализировалось из-за формирования газового облака.

При проведении УЗ-исследования у 13 пациенток на 5-7 сутки отмечалось уменьшение опухолевого узла от 10 до 5 мм, у остальных не было четкой визуализации опухоли (отек тканей).

Основным методом оценки эффективности лечения был морфологический. У всех пациенток на 7-14 сутки и через 1 месяц бралась тонкоигольная биопсия.

Операбельные пациентки подверглись хирургическому лечению (24 человека), что позволило более полно изучить операционный материал. Макроскопически в 15 случаях отмечалось увеличение размеров опухолевого узла от 4 до 20 мм за счет асептического некроза опухоли и окружающей ткани и связанных с ним воспалительных изменений. Лечебный патоморфоз определялся по Лавниковой Г.А.: 3 степень лечебного патоморфоза выявлена в 14 случаях (рис. 8), 2 степень – в 7 случаях, 1 – у 3 пациенток. В исследовании нами учитывался процент некроза опухолевого узла: до 40 % – у 6 человек, от 40 до 60 % – в 6 случаях, от 60-80 % – у 9 пациенток, 80-95 % – в 3 случаях. В окружающих опухоль тканях также наблюдали некротические из-

менения с повреждением окружающих сосудов. Пациентки находятся под наблюдением, данных за рецидивирование и метастазирование не получено.

При ЭХЛ происходит повреждение сосудов опухоли (рис. 9) и прилежащей здоровой ткани, что, возможно, препятствует метастазированию (объем абляции зависит от числа использованных электродов).

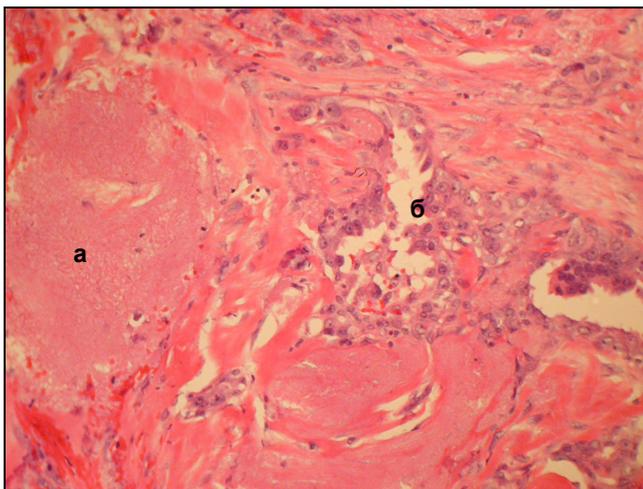


Рис. 8. III ст. лечебного патоморфоза опухоли молочной железы: а) некроз, б) частично сохраненная опухолевая ткань.

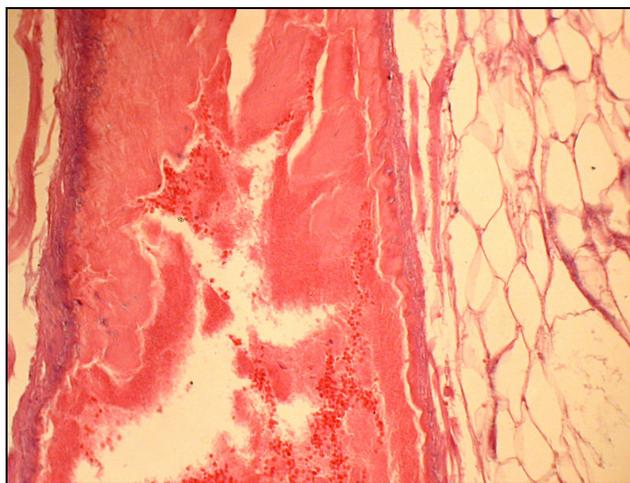


Рис. 9. Коагуляционный некроз стенок сосуда с пристеночными тромбами.

8 пациенток не были прооперированы: в одном случае произошла самопроизвольная некрэктомия (тотальный некроз опухоли и прилежащих здоровых тканей) (рис. 10), 4 больные отказались от хирургического лечения, трое имели отдаленные метастазы. У двух пациенток при контрольных исследованиях (цитологическое исследование, УЗИ, маммография) данных за рецидив и отдаленные метастазы не получено, ответ опухоли на лечение «полный», но при этом пациентки получили комбинированное лечение с ЭХЛ на первом этапе. У одной пациентки че-

рез 2 года после лечения выявлен рецидив заболевания и было проведено оперативное лечение. Двое больных, имевших метастатические очаги в легких, умерли в результате прогрессирования процесса в легких. Отсутствуют сведения об одной пациентке с отдаленными метастазами и одной больной, отказавшейся от оперативного лечения.

Время наблюдения составило от 6 месяцев до 3-х лет.

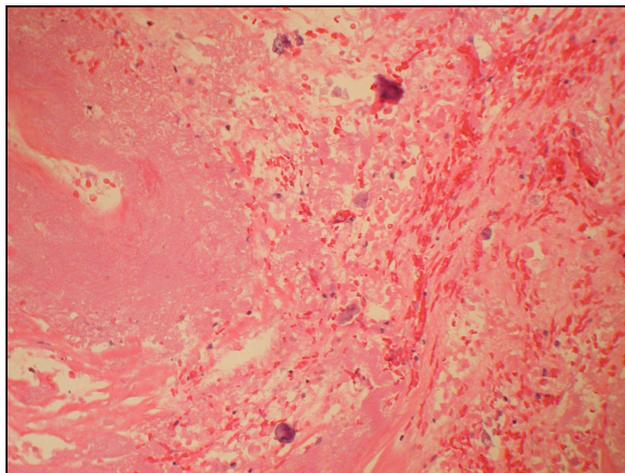


Рис. 10. IV ст. лечебного патоморфоза – тотальный некроз опухоли молочной железы.

Таким образом, в ходе исследования выявлено, что при силе тока в 80 мА, времени воздействия от 20 до 40 минут, при воздействии только электрохимическим лизисом, удастся достигнуть лечебного патоморфоза 3 степени. При проведении комбинированного лечения с ЭХЛ на первом этапе у всех прооперированных пациенток и 2-х, отказавшихся от хирургического лечения, на сроке наблюдения три года данных за метастазирование и рецидивирование процесса не получено.

Выводы

Доказана эффективность ЭХЛ в эксперименте, при силе тока 30мА и времени воздействия 15 минут в 75 % случаев получена полная регрессия в эксперименте.

ЭХЛ позволяет получить третью степень лечебного патоморфоза рака молочной железы при силе тока в 80 мА и времени от 20 до 40 мин у большинства пациентов.

При проведении комбинированного лечения с ЭХЛ на первом этапе у всех прооперированных пациенток и двух, отказавшихся от хирургического лечения, на сроке наблюдения три года данных за метастазирование и рецидивирование процесса не получено.

ЭХЛ открывает новые возможности в лечении первичной опухоли молочной железы и метастатических очагов.

Литература

1. **Борсуков А.В.** Малоинвазивный электрохимический лизис в гепатологии, маммологии, урологии, эндокринологии. М.: Медпрактика, 2008. С. 30-32, С. 145-189.
2. **Дворниченко В.В., Лалетин В.Г., Сенькин Ю.Г. и др.** Опыт электрохимической абляции злокачественных новообразований печени //Сибирский онкологический журнал. 2008. Приложение № 1: Материалы конференции. С. 37-38.
3. **Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В.** Злокачественные образования в России в 2006 году (заболеваемость и смертность). М., 2008. 438 с.
4. **Щаева С.Н.** Возможности электрохимического лизиса под ультразвуковым контролем в малоинвазивном лечении очаговых доброкачественных заболеваний молочных желез: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Смоленск, 2007. 18 с.
5. **Nordenstrom B.** Survey of mechanisms in electrochemical treatment (ECT) of cancer //Eur. J. Surg. 1994. Suppl. 574. P. 32-40.
6. **Xin Yu-Ling.** Advances in the treatment of malignant tumours by electrochemical therapy (ECT) //Eur. J. Surg. 1994. Suppl. 574. P. 31-34.
7. **Xin Yu-Ling, Peng Ze-Bing.** Effect of electrochemical therapy on breast of middle and late stages //Abstraction of The 8th Congress on Tumors of International Association of Biological Closed Electric Circuits (IABC), Nanning City, China, September, 21-23. 2004. P. 90-95.

Experimental and clinical researches of possibility of electrochemical lysis in treatment of malignant tumors

Kaplan M.A., Medvedev V.N., Kiseleva M.V., Malik S.S., Kapinus V.N., Goranskaya E.V., Mikhailovskaya A.A., Taibova M.V., Fomin S.D.

Institution of the Russian Academy of Medical Sciences Medical Radiological Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, Obninsk

In experiment an antitumoral efficiency of electrochemical lysis (ECL) was estimated on an example sarcoma M-1, some various combination of ECL parameters (current strength, time of influence) were investigated. By estimate of results we can see that with increase of parameters a percent of full tumor regression goes up. It was confirmed by investigation of the morphological section. In clinic by performance of ECL to patient with breast cancer the medicinal pathomorphism 3 stages was achieved. In observation period we haven't received the date about metastasis.

Key words: *electrochemicallysis, sarcoma M-1, cancer.*

Kaplan M.A. – Head of Department, D.Sc., Medicine, Professor; **Medvedev V.N.** – Chief of Department, Cand.Sc., Medicine; **Kiseleva M.V.** – Chief of Department, D.Sc., Medicine; **Malik S.S.** – Doctor, Cand.Sc., Medicine; **Kapinus V.N.** – Doctor, Cand.Sc., Medicine; **Goranskaya E.V.*** – Research Assistant, **Mikhailovskaya A.A.** – Research Assistant; **Taibova M.V.** – Doctor; **Fomin S.D.** – Doctor. MRRC RAMS.

* Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (48439) 9-30-26; e-mail: Kaplan@mrc.obninsk.ru.