

О.С. Олифирова ¹, С.В. Кналян ¹, Т.Е. Тальченкова ², Н.Н.Трынов ¹

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ УЗЛОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (Благовещенск)² ГБУЗ АО «Амурская областная клиническая больница» (Благовещенск)

Проведено исследование методом иммуноферментного анализа (ИФА) галектина-3 (human Galectin-3 ELISA Bender MedSystems) в качестве онкомаркера в сыворотке крови и смывах из узловых образований щитовидной железы при РЩЖ (18) и доброкачественных заболеваниях щитовидной железы (26) в предоперационном периоде. Галектин-3 был обнаружен у всех больных с РЩЖ. Средние уровни содержания галектина-3 у больных с РЩЖ в сыворотке крови ($0,72 \pm 0,1$ нг/мл) и смывах из узловых образований ЩЖ ($2,86 \pm 0,9$ нг/мл) достоверно превышали аналогичные показатели при доброкачественных заболеваниях ЩЖ ($0,42 \pm 0,1$ и $0,83 \pm 0,2$ нг/мл соответственно). Полученные данные позволяют предположить возможность определения галектина-3 в качестве дополнительного параметра для комплексной дифференциальной диагностики высококодифференцированного РЩЖ методом ИФА.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, галектин-3, иммуноферментный анализ

NEW POSSIBILITIES IN PREOPERATIVE DIAGNOSIS OF NODULAR THYROID DISEASES

O.S. Olifirova ¹, S.V. Knalyan ¹, T.E. Talchenkova ², N.N. Trynov ¹¹ Amur State Medical Academy, Blagoveschensk² Amur Regional Clinical Hospital, Blagoveschensk

Galectin-3 (human Galectin-3 ELISA Bender MedSystems) was researched by the method of immune-enzyme analysis as an oncomarker in blood serum and swabs of thyroid nodules of the patients with cancer (18) and non-cancerous diseases of thyroid gland (26) in the preoperative period. All the patients with thyroid cancer had galectin-3. Average levels of galectin-3 in patients with thyroid cancer in blood serum ($0,72 \pm 0,1$ ng/ml) and swabs from the thyroid nodules ($2,86 \pm 0,9$ ng/ml) were significantly higher than similar indices at non-cancerous diseases ($0,42 \pm 0,19$ and $0,83 \pm 0,2$ ng/ml respectively). Obtained results allow to suppose the possibility of determination of galectin-3 as an additional parameter for the complex differential diagnosis of a highly differentiated thyroid cancer by the method of immune-enzyme analysis.

Key words: thyroid cancer, galectin-3, immune-enzyme analysis

ВВЕДЕНИЕ

В связи со значительной распространенностью узловой патологии щитовидной железы (ЩЖ) как в мире, так и в РФ, возросло число операций на этом органе [3]. Их следствием является послеоперационный гипотиреоз, вызывающий каскад метаболических нарушений в организме. В настоящее время показания к оперативному лечению ограничены и достаточно ясно сформулированы. Однако существуют трудности в определении онкологических показаний. Основным диагностическим критерием в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных заболеваний является тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия (ТАПБ) с цитологическим исследованием. Как справедливо замечают А.Ф. Романчишен с соавт. [3], этот метод имеет свой предел точности и его нельзя абсолютизировать. Точность ТАПБ зависит от субъективных причин (профессионального опыта врачей, выполняющих исследование) и объективных факторов (невозможность дифференцировать фолликулярный рак и фолликулярную аденому на основании цитологических данных, многоузловой характер поражения, малые размеры узлов). Значительные трудности вызывает дифференциальная диагностика узловых образований

небольшого размера при ранних стадиях заболевания, соответствующих T₁ – T₂ рака ЩЖ (UICC/AJCC, 6-я ред., 2002) [6]. Поэтому поиск новых методов диагностики этой патологии продолжает оставаться актуальным. Благодаря значительному прогрессу в лабораторной диагностике последних лет, появились новые возможности в комплексном выявлении злокачественных заболеваний за счет определения серологических опухолеассоциированных маркеров [2].

К сожалению, для дифференциальной диагностики высококодифференцированного рака ЩЖ (РЩЖ) пока не предложены высокоспецифичные серологические онкомаркеры, а применяемые (тиреоглобулин, раковый эмбриональный антиген) не нашли широкого применения из-за недостаточной чувствительности и специфичности. Тиреоглобулин — гликопротеин и основной компонент коллоида фолликулов ЩЖ. Он используется для мониторинга адекватности оперативного лечения РЩЖ в послеоперационном периоде [14], хотя некоторые авторы указывают на возможность повышения его содержания при злокачественных опухолях ЩЖ [5, 8].

Наше внимание привлек галектин-3 как возможный маркер РЩЖ, на основании ряда наблю-

дений разных исследователей [4, 7, 10, 12, 13]. Галектин-3 — это β -галактозид-связывающий белок с молекулярной массой 26 кДа, принадлежащий к семейству галектинов. Экспрессия галектина-3 изменяется при неопластической трансформации: повышение наблюдается при РЩЖ, но может снижаться при других типах злокачественных новообразований [4, 7]. Установлено, что галектин-3 действует как внеклеточно, так и внутриклеточно [11, 13]. Большинство публикаций посвящено иммуноцитохимическому и иммуногистохимическому исследованию галектина-3 при заболеваниях ЩЖ [4, 9, 11]. Несмотря на некоторые противоречия в оценке, отмечена эффективность определения экспрессии галектина-3 при карциномах ЩЖ [4, 7, 11, 13]. Вместе с тем авторы указывают, что галектин-3 не является единственным высокоспецифичным маркером при иммуноцитохимическом и иммуногистохимическом исследованиях, но может использоваться как дополнительное средство в комплексной диагностике РЩЖ или в сочетании с другими онкомаркерами [4, 7].

Перспективным направлением явилось совместное исследование экспрессии галектина-3 методом проточной флуориметрии и мутации гена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в пунктате из узла ЩЖ, полученном при ТАПБ [1]. Авторами отмечена высокая специфичность и точность предложенного метода в дооперационной диагностике высокодифференцированного РЩЖ [1]. Однако более широкое внедрение вышеуказанных методов пока ограничено их стоимостью и сложностью выполнения. Благодаря совершенствованию современных методов проведения иммуноферментного анализа и созданию новых наборов реагентов для определения молекулярных маркеров, появилась возможность развивать дифференциальную диагностику злокачественных новообразований в этом направлении, тем более, что серологические исследования, касающиеся галектина-3, немногочисленны [2]. В связи с этим научно-практический интерес представляет изучение диагностической значимости определения серологического маркера галектина-3 при онкопатологии ЩЖ методом ИФА как более простого и менее дорогостоящего метода, а также возможность сравнения полученных результатов с другим маркером тиреоидной патологии — тиреоглобулином.

Целью исследования явилось оценить возможность определения галектина-3 методом ИФА для дифференциальной диагностики доброкачественных узловых заболеваний ЩЖ и высокодифференцированного РЩЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ результатов обследования 44 больных с заболеваниями ЩЖ, получавших лечение в хирургическом отделении Амурской областной клинической больницы — клинической базе Амурской государственной медицинской академии — в 2010–2011 гг. Из них 43 (97,7 %) женщины и 1 (2,3 %) мужчина. Средний возраст — $51,5 \pm 2,1$ лет.

В комплекс диагностических методов входили исследование гормонов ЩЖ, тиреоглобулина, УЗИ ЩЖ, цветное доплеровское картирование (ЦДК) ЩЖ, ТАПБ под контролем УЗИ, сканирование ЩЖ при тиреотоксикозе, послеоперационное гистологическое исследование ЩЖ. В предоперационном периоде проведено исследование галектина-3 в сыворотке периферической крови и смыве аспирата из пункционной иглы (21G), полученного при ТАПБ узловых образований ЩЖ. Аналогичным образом определяли содержание тиреоглобулина. После выполнения ТАПБ аспират наносили на предметное стекло и направляли для цитологического исследования. Пункционную иглу промывали двукратно 1 мл изотонического раствора натрия хлорида. Полученный смыв аспирата использовали для исследования онкомаркеров методом иммуноферментного анализа с использованием автоматизированного анализатора «Multicon EX» (Финляндия). Галектин-3 исследовали с помощью иммуноферментного набора для количественного определения человеческого галектина-3 (human Galectin-3 ELISA) фирмы Bender MedSystems (Австрия), предназначенного для исследовательских целей. Уровни галектина-3 в сыворотке крови, установленные фирмой-производителем, составляли 0,62–6,25 нг/мл, со средним уровнем 2,33 нг/мл.

Для определения тиреоглобулина применяли набор реагентов ТироидИФА-ТТГ-1 «Алкор Био» (Санкт-Петербург, Россия) с рекомендуемым нормальным уровнем тиреоглобулина до 55 нг/мл.

Всем больным были выполнены операции по поводу заболеваний ЩЖ. Показаниями к операции явились РЩЖ (9), фолликулярная опухоль (17), компрессия органов шеи (13), неэффективность консервативной терапии тиреотоксикоза (5). Соотношение дооперационного цитологического и послеоперационного гистологического диагнозов указано в таблице 1.

Из общего числа больных у 18 (40,9 %) был морфологически верифицирован РЩЖ, коллоидный зоб — у 14 (31,8 %), фолликулярные аденомы — у 11 (25 %), аутоиммунный тиреоидит (АИТ) — у 1 больного (2,3 %).

Согласно классификации pTNM (UICC/AJCC, 6-я ред., 2002) [6], больные РЩЖ (18) распределились следующим образом: $T_1N_0M_0$ — 12 (66,6 %), $T_2N_0M_0$ — 3 (16,7 %), $T_3N_0M_0$ — 3 (16,7 %). Наибольший диаметр опухолей ЩЖ составлял от 0,5 см до 10 см, а в среднем — $2,7 \pm 0,7$ см.

Для анализа полученных результатов были выделены две клинические группы больных. В 1-ю группу вошли 18 больных с РЩЖ, во 2-ю группу — 26 больных с доброкачественными заболеваниями щитовидной железы (ДЗЩЖ). Такое разделение обусловлено тем, что в хирургической практике принципиальным является выявление РЩЖ как абсолютного показания к операции, в то время как при ДЗЩЖ оперативное лечение выполняется по ограниченному показанию. Характеристика больных по полу, возрасту, функции и объему ЩЖ представлена в таблице 2.

Таблица 1

Результаты до и послеоперационной морфологической диагностики

Предоперационное цитологическое заключение	Кол-во	Послеоперационное гистологическое заключение	Кол-во
РЩЖ	9	РЩЖ	8
		Фолликулярная аденома ЩЖ	1
Фолликулярная опухоль ЩЖ	17	Папиллярный РЩЖ	6
		Фолликулярный РЩЖ	2
		Фолликулярная аденома	8
		Коллоидный зоб	1
Коллоидный зоб	18	РЩЖ	2
		Фолликулярная аденома	2
		Коллоидный зоб	13
		Аутоиммунный тиреоидит	1
Всего	44	Всего:	
		РЩЖ	18
		Аденома ЩЖ	11
		Коллоидный зоб	14
		Аутоиммунный тиреоидит	1

Таблица 2

Характеристика больных в клинических группах

Показатели	Группа 1 (РЩЖ) (n = 18)	Группа 2 (ДЗЩЖ) (n = 26)	p
Количество мужчин	1	0	> 0,5
Количество женщин	17	26	> 0,5
Средний возраст (годы)	49,8 ± 2,7	52,7 ± 2,9	> 0,5
Эутиреоз (кол-во)	16	20	> 0,5
Тиреотоксикоз (кол-во)	1	4	> 0,5
Гипотиреоз (кол-во)	1	2	> 0,5
Объем ЩЖ (см³)	31,1 ± 6,9	55,1 ± 14,3	> 0,5

Примечание: ДЗЩЖ – доброкачественные заболевания щитовидной железы; РЩЖ – рак щитовидной железы; ЩЖ – щитовидная железа.

Больные обеих групп сопоставимы по полу, возрасту, функции щитовидной железы. В среднем объем ЩЖ у больных 1-й группы составил $31,1 \pm 6,9$ см³, а у 2-й группы – $55,1 \pm 14,3$ см³ ($p > 0,5$).

Математическую обработку результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Степень отличий считали значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Галектин-3 был обнаружен в сыворотке крови и смывах из узловых образований у всех больных 1-й группы, которым был верифицирован РЩЖ. Во 2-й группе больных с ДЗЩЖ содержание галектина-3 также было установлено, но в меньшем числе наблюдений (в сыворотке – 69,2 %, в смывах – 76,9 %). У 7 (26,9 %) больных 2-й группы с ДЗЩЖ

не обнаружено галектина-3 в сыворотке крови и смывах из узловых образований. Значения галектина-3 сыворотки крови находились в диапазоне 0,1 – 0,9 нг/мл в 100 % наблюдений в 1-й группе и в 69,2 % случаев – во 2-й группе. В среднем уровень галектина-3 сыворотки крови был значимо выше у больных с РЩЖ ($0,72 \pm 0,1$ нг/мл), чем у больных с ДЗЩЖ ($0,42 \pm 0,1$ нг/мл), хотя и не превышал установленных фирмой-производителем нормальных показателей. Уровни галектина-3 в клинических группах указаны в таблице 3.

Средний уровень галектина-3 в смывах из узловых образований при РЩЖ (1-я группа) был значимо выше и составил $2,86 \pm 0,9$ нг/мл по сравнению со 2-й группой ($0,83 \pm 0,2$ нг/мл). Значения галектина-3 у больных с РЩЖ находились в диапазоне 0,8 – 13,9 нг/мл. Из них в диапазоне 0,1 – 1 нг/мл – 33,3 % (6) наблюдений; 1,1 – 2 нг/мл – 38,9 % (7); свыше 2 нг/мл – 27,8 % (5). Уровни галектина-3 в смывах при ДЗЩЖ были в диапазоне 0 – 4,4 нг/мл: 0,1 – 1 нг/мл – 50 % (13) наблюдений; 1,1 – 2 нг/мл – 19,2 % (5); свыше 2 нг/мл – 3,8 % (1).

Анализ полученных результатов показал, что содержание галектина-3 у больных обеих групп оказалось выше в смывах, полученных при пункции узловых образований, чем в сыворотке крови. Установлено, что уровень галектина-3 был значимо большим в смывах из злокачественных опухолей ($2,86 \pm 0,9$ нг/мл), чем в смывах из доброкачественных узловых образований ЩЖ ($0,83 \pm 0,2$ нг/мл). Очевидно, это обусловлено локализацией галектина в цитоплазме, ядре, поверхности тиреоидных клеток, межклеточном матриксе [11, 13]. Полученные данные согласуются с информацией, что продукция галектина-3 возрастает при неопластических процессах в ЩЖ [7, 13].

Уровни галектина-3 в клинических группах

Группа	Число больных	Уровень галектина-3, нг/мл		
		Диапазон	Средний, $M \pm m$	p
1-я группа (РЩЖ)	18	Сыворотка 0,7–0,8	$0,72 \pm 0,1$	$p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,05$
		Смыв 0,8–13,9	$2,86 \pm 0,9$	
2-я группа (ДЗЩЖ)	26	Сыворотка 0–0,8	$0,42 \pm 0,1$	
		Смыв 0–4,4	$0,83 \pm 0,2$	

Примечание: p_1 – значимость различий между средним уровнем галектина-3 в сыворотке и смыве в 1-й группе; p_2 – значимость различий между средним уровнем галектина-3 в сыворотке и смыве во 2-й группе; p_3 – значимость различий между средним уровнем галектина-3 в сыворотке в 1-й и 2-й группах; p_4 – значимость различий между средним уровнем галектина-3 в смыве в 1-й и 2-й группах; ДЗЩЖ – доброкачественные заболевания щитовидной железы; РЩЖ – рак щитовидной железы.

Исследование тиреоглобулина в сыворотке крови этих же больных показало, что уровень его содержания находился в диапазоне $2,1 - 407$ нг/мл у больных 1-й группы и $3,7 - 397,5$ нг/мл – у больных 2-й группы. Средний уровень тиреоглобулина превышал установленную норму (до 55 нг/мл) у больных обеих групп. Значимых различий в средних значениях тиреоглобулина в сыворотке крови у больных с РЩЖ ($116,3 \pm 36,0$ нг/мл) и больных с ДЗЩЖ ($181 \pm 26,4$ нг/мл) не установлено. Тем не менее, уровень тиреоглобулина в смывах из злокачественных новообразований ($351,8 \pm 17,8$ нг/мл) был значительно выше ($p < 0,01$), чем из доброкачественных узлов ЩЖ ($169 \pm 26,9$ нг/мл). Причем содержание тиреоглобулина у больных с РЩЖ в смывах было достоверно больше, чем в сыворотке крови больных этой же группы. Этот факт объясняется тем, что тиреоглобулин является основным компонентом коллоида фолликулов ЩЖ, а также подтверждает информацию об усиленной секреции тиреоглобулина клетками неопластической ткани при дифференцированном РЩЖ [8].

Корреляционной зависимости между уровнем содержания галектина-3 и тиреоглобулина в сыворотке и смывах из узловых образований не обнаружено.

Целенаправленно проведено изучение результатов у больных с предоперационным заключением «фолликулярная опухоль». Понятие «фолликулярная опухоль» ЩЖ относится к категории неопределенных цитологических диагнозов, когда на основании цитологических данных невозможна дифференциальная диагностика РЩЖ и фолликулярной аденомы ЩЖ. Хирургический аспект проблемы состоит в том, что из-за неопределенности доброкачественного или злокачественного характера «фолликулярной опухоли» возникают трудности в выборе адекватного объема оперативного вмешательства. Проведен анализ результатов исследования галектина-3 и тиреоглобулина у больных (17), оперированных по поводу «фолликулярной опухоли» ЩЖ. После операции у 7 из них был верифицирован РЩЖ, а у 10 – ДЗЩЖ (табл. 1). Оказалось, что содержание галектина-3 у больных РЩЖ в сыворотке крови ($0,78 \pm 0,03$ нг/мл) и смывах из узловых образований ($4,6 \pm 2,1$ нг/мл) пре-

вышало аналогичные показатели больных ДЗЩЖ ($0,31 \pm 0,1$ и $0,65 \pm 0,1$ нг/мл соответственно). Причем средний уровень галектина-3 в смывах из злокачественных узловых образований был выше, чем в сыворотке крови этих же больных. Полученные результаты исследования позволяют предполагать возможность использования метода ИФА с определением галектина-3 в качестве дополнительного параметра для комплексной дифференциальной диагностики у больных с неопределенным цитологическим диагнозом «фолликулярная опухоль» ЩЖ.

Обращает внимание, что средний уровень тиреоглобулина в смывах из злокачественных узловых образований составлял $366 \pm 32,9$ нг/мл, тогда как при ДЗЩЖ он был значительно меньше ($268 \pm 38,3$ нг/мл). Эти данные представляют интерес, но пока недостаточны для разработки клинко-диагностической концепции определения уровня содержания тиреоглобулина из узловых образований ЩЖ в качестве онкомаркера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования выявили различия в количественном содержании галектина-3 у больных с РЩЖ и ДЗЩЖ. Галектин-3 был обнаружен в сыворотке крови и смывах из узловых образований ЩЖ во всех случаях РЩЖ, тогда как при ДЗЩЖ – в 69,2 % и 76,9 % соответственно. Установлено, что средние значения галектина-3 в сыворотке крови и смывах из узловых образований ЩЖ у больных с РЩЖ были достоверно выше, чем у больных с ДЗЩЖ. Причем уровень галектина-3 в смывах из злокачественных опухолей ЩЖ превышал его содержание в сыворотке крови этих же больных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования методом ИФА галектина-3 в качестве онкомаркера для уточняющей диагностики и мониторинга на этапах лечения РЩЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комбинированный анализ выявления мутации гена Braf и экспрессии галектина-3 в дооперационной диагностике рака щитовидной железы / Д.Ю. Семенов, М.И. Зарайский, Л.Е. Колоскова [и

др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2011. — № 2. — С. 49–56.

2. Молекулярные маркеры опухолей / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн, Л.К. Овчинникова, М.А. Дигаева // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 148, № 8. — С. 199–208.

3. Новые возможности пункционной биопсии в диагностике рака щитовидной железы и гиперпаратиреоза / А.Ф. Романчишен, А.В. Гостимский, И.В. Зайцева, Е.В. Липская // Современные аспекты хирургической эндокринологии: Матер. XIX Рос. симп. — Челябинск, 2010. — С. 306–308.

4. Определение экспрессии галектина-3 в ткани фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е.А. Коган, Н.А. Петунина, Т.В. Чернышова, Д.В. Лукьянченко // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2011. — Т. 7, № 1. — С. 45–49.

5. Пинский С.Б., Калинин А.П., Белобородов В.А. Диагностика заболеваний щитовидной железы. — М.: Медицина, 2005. — 192 с.

6. Рак щитовидной железы: Современные подходы к лечению / П.О. Румянцев, А.А. Ильин, У.В. Румянцева, В.А. Саенко. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 448 с.

7. Роль молекулярных маркеров в дифференциальной диагностике фолликулярных опухолей щитовидной железы / Е.А. Трошина, Н.В. Мазурина, И.А. Абесадзе, П.В. Юшков [и др.] // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2006. — Т. 2, № 2. — С. 22–26.

8. Скударнова Н.М., Соболева Н.В., Мычка Н.В. Гормоны щитовидной железы. — Кольцово: ЗАО «Вектор-Бест», 2006. — 32 с.

9. Beesley M.F., McLaren K.M. Cytokeratin 19 and galectin-3 Immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules // Histopathol. — 2002. — Vol. 41, N 3. — P. 236–243.

10. Belfiore A. The use of fine needle aspiration biopsy (FNAB) in thyroid disease // Thyroid International. — 2002. — N 2. — P. 4–15.

11. Characterization of thyroid «follicular neoplasms» in fine-needle aspiration cytological specimens using a panel of immunohistochemical markers: a proposal for clinical application / E. Saggiorato, R. De Pompa, M. Volante, S. Cappia [et al.] // Endocr. Relat. Cancer. — 2005. — Vol. 12 (2). — P. 305–317.

12. Galectin-3 and CD44v6 isoforms in the pre-operative evaluation of thyroid nodules / A. Gasbarri, M.P. Martegani [et al.] // J. Clin. Oncol. — 1999. — Vol. 17, N 11. — P. 3494–3502.

13. Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study / A. Bartolazzi, F. Orlandi, E. Saggiorato, M. Volante [et al.] // Lancet Oncol. — 2008. — Vol. 9, N 6. — P. 508–510.

14. Spencer A.C. Современные принципы оценки уровня тиреоглобулина при наблюдении пациентов с высокодифференцированным раком щитовидной железы // Thyroid International (на русском языке). — 2003. — N 4. — P. 1–15.

Сведения об авторах

Олифирова Ольга Степановна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой хирургических болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 74; тел.: 8 (4162) 42-97-43; e-mail: olif.oc@mail.ru)

Княлян Софья Владимировна – аспирант кафедры хирургических болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 74; тел.: 8 (4162) 42-97-43)

Тальченкова Татьяна Евгеньевна – заведующая лабораторией «Центра планирования семьи» ГБУЗ АО «Амурская областная клиническая больница» (675000, г. Благовещенск, ул. Воронкова, 26; тел.: 8 (4162) 42-96-13)

Трынов Николай Николаевич – аспирант кафедры хирургических болезней факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 74; тел.: 8 (4162) 42-97-43)