

КАРДИОЛОГИЯ

УДК 619:616.12-008.313.3-073.97:636.7

**Организованная активность фибрилляции
желудочков собаки при реперфузии
после одномоментной ишемии сердца***П. К. Яблонский, М. И. Гурьянов*

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии,
Российская Федерация, 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4
Санкт-Петербургский государственный университет,
Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Для цитирования: Яблонский П. К., Гурьянов М. И. Организованная активность фибрилляции желудочков собаки при реперфузии после одномоментной ишемии сердца // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2023. Т. 18. Вып. 2. С. 141–149.
<https://doi.org/10.21638/spbu11.2023.203>

Фибрилляция желудочков сердца является наиболее частой причиной внезапной сердечной смерти и продолжает оставаться актуальной проблемой. Целью исследования было изучение организованной активности фибрилляции желудочков сердца собаки при 1-минутной ишемии и 10-минутной реперфузии сердца при фибрилляции. Регистрировали электрограмму желудочков сердца и проводили спектральный анализ 10-секундных отрезков электрограммы при перфузии, ишемии и реперфузии сердца при фибрилляции методом быстрого преобразования Фурье в 30 частотах полугерцовой ширины в диапазоне 0,5–15 Гц. Определяли удельный вес осцилляций частотой 0,5–15 Гц при перфузии, ишемии и реперфузии сердца при фибрилляции. Фибрилляция желудочков характеризуется организованной активностью при перфузии, ишемии и реперфузии, о чем свидетельствует доминантная структура частот осцилляций фибрилляции. Перфузия сердца при фибрилляции желудочков повышает устойчивость организованной структуры фибрилляции к ишемии: при 1-минутной ишемии после 10-минутной перфузии частота доминирующих осцилляций снижается всего на 0,5 Гц, а организованная активность не снижается. Реперфузия при фибрилляции характеризуется транзиторным повышением на 1,5 Гц частоты доминирующих осцилляций и 15-процентным снижением организованной активности фибрилляции на 1-й минуте реперфузии после 1-минутной ишемии. Организованная структура фибрилляции более чувствительна к реперфузии, чем к ишемии.

© Санкт-Петербургский государственный университет, 2023

Ключевые слова: фибрилляция желудочков, перфузия сердца, ишемия сердца, реперфузия сердца, организованная активность фибрилляции желудочков, реперфузионные осложнения.

Введение

Фибрилляция желудочков (ФЖ) сердца является актуальной проблемой, так как это наиболее частая причина внезапной сердечной смерти в России и других странах [1, 2].

В случае перфузии сердца при ФЖ эта патология характеризуется стабильной организованной активностью [3, 4], которая снижается в случае ишемии сердца [5, 6]. Следует ожидать, что организованная активность, сниженная под влиянием ишемии при ФЖ, будет возрастать при реперфузии сердца. Но реперфузия приводит к реперфузионным осложнениям, включая повреждение миокарда и желудочковые аритмии, включая ФЖ [7, 8], поэтому возможны реперфузионные осложнения при ФЖ.

Мы обнаружили две публикации, посвященные изучению реперфузии при ФЖ. На изолированном искусственно перфузируемом сердце, выделенном у пациентов с кардиомиопатией, которым было пересажено донорское сердце, доминирующая частота ФЖ снижалась от 4,9 до 3,6 Гц при 200-секундной ишемии и возрастала до 4,7 Гц при 120-секундной реперфузии [9]. На наш взгляд, параметры ФЖ нежизнеспособного, замененного донорским сердца не применимы к ФЖ жизнеспособного сердца.

При ФЖ, искусственно вызванной во время кардиохирургической операции, доминирующая частота фибрилляций возрастала от 5,3 до 6,1 Гц при 30-секундной перфузии, снижалась от 6,4 до 4,7 Гц при 150-секундной ишемии и возрастала до 7,1 Гц при 30-секундной реперфузии сердца [10]. На наш взгляд, 30-секундной реперфузии недостаточно для восстановления параметров ФЖ после 150-секундной ишемии при ФЖ. Неясно также, как оценивать организованную активность ФЖ по одной, хотя бы и доминирующей ее частоте. Кроме того, ее доминирующая частота при 30-секундной перфузии, которая служила контролем и с которой сравнивали ишемию и реперфузию, была непостоянной.

Таким образом, анализ доступных нам публикаций показывает, что организованная активность ФЖ при реперфузии не изучена.

Цель настоящей статьи — изучить организованную активность ФЖ сердца собаки при 1-минутной ишемии и 10-минутной реперфузии сердца.

Методы

Было проведено четыре эксперимента на собаках в соответствии с приказом Министерства высшего и среднего специального образования СССР № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой в Страсбурге 18 марта 1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15 июня 2006 г.

У собак под тиопенталовым наркозом (10–15 мг/кг начальная доза и 4–7 мг/кг ежедневно) проводили искусственную вентиляцию легких и выделяли сердце из грудной клетки. Канюлировали аорту изолированного сердца и проводили кардиоплегию. Затем подключали перфузию сердца кровью поддерживающей собаки, которой проводили искусственную вентиляцию легких под тиопенталовым наркозом. Интервал от кардиоплегии до подключения перфузии не превышал 10 минут. Ишемия миокарда обратима без повреждения структуры и функции при подключении перфузии в 10-минутном интервале кардиоплегии [11].

Из бедренной артерии поддерживающей собаки кровь поступала в аорту изолированного сердца. Перфузионное давление в аорте 90–100 мм обеспечивало перфузию сердца по принципу Лангендорфа [12]. Венозная кровь из предсердий возвращалась в бедренную вену поддерживающей собаки. Для предотвращения тромбообразования проводили гепаринизацию собак (500 МЕ/кг начальная доза и 150 МЕ/кг ежедневно). Сердце находилось в камере из органического стекла, в которой поддерживали температуру 37 °С. Поддерживающую собаку обогревали электрическим одеялом. Температуру собаки поддерживали 37 °С.

Регистрировали электрограмму желудочков сердца от электродов, вколотых в правый и левый желудочки, на кардиографе «Кардиотехника-ЭКГ-8» (Инкарт, СПб.) при частоте оцифровки 1000 Гц. Патологические изменения на электрограммах до ФЖ не определялись. ФЖ вызывали электрическими стимулами частотой 10 Гц и амплитудой 10 мА.

Проводили спектральный анализ 1-секундных отрезков электрограммы при перфузии, ишемии и реперфузии при ФЖ методом быстрого преобразования Фурье (БПФ). Метод БПФ позволяет объективно определять частоту и амплитуду осцилляций ФЖ [3, 4].

Для получения ишемии ставили зажим на аортальную трубку, питающую сердце. Снятие зажима приводило к реперфузии при ФЖ. Параметры ФЖ при перфузии сердца служили в качестве контрольных, с которыми сравнивали динамику ФЖ при ишемии и реперфузии.

Спектральный анализ проводили методом БПФ в 30 частотах полугерцовой ширины в диапазоне 0,5–15 Гц: 0,5, 1, 1,5, ..., 15 Гц. Определяли удельный вес (%) осцилляций частотой 0,5–15 Гц в 10-секундных интервалах ФЖ при перфузии, ишемии и реперфузии ($M \pm m$, $n = 60$). Статистическую обработку проводили по критерию Welch в среде «R» [13].

Результаты

На электрограмме желудочков при перфузии сердца во время ФЖ доминируют осцилляции частотой 9–10 Гц (рис. 1, а), что объективно подтверждает спектрограмма электрограммы: осцилляции частотой 9, 9,5 и 10 Гц стоят на 1–3-м местах по спектральной мощности и доминируют в структуре частот осцилляций (рис. 1, д). На 51–60-й секундах ишемии доминируют осцилляции частотой 8,5–9,5 Гц (рис. 1, б, е). На 51–60-й секундах реперфузии доминируют осцилляции частотой 10–11 Гц (рис. 1, в, ж), а на 591–600-й секундах доминируют осцилляции частотой 9–10 Гц (рис. 1, з, з).

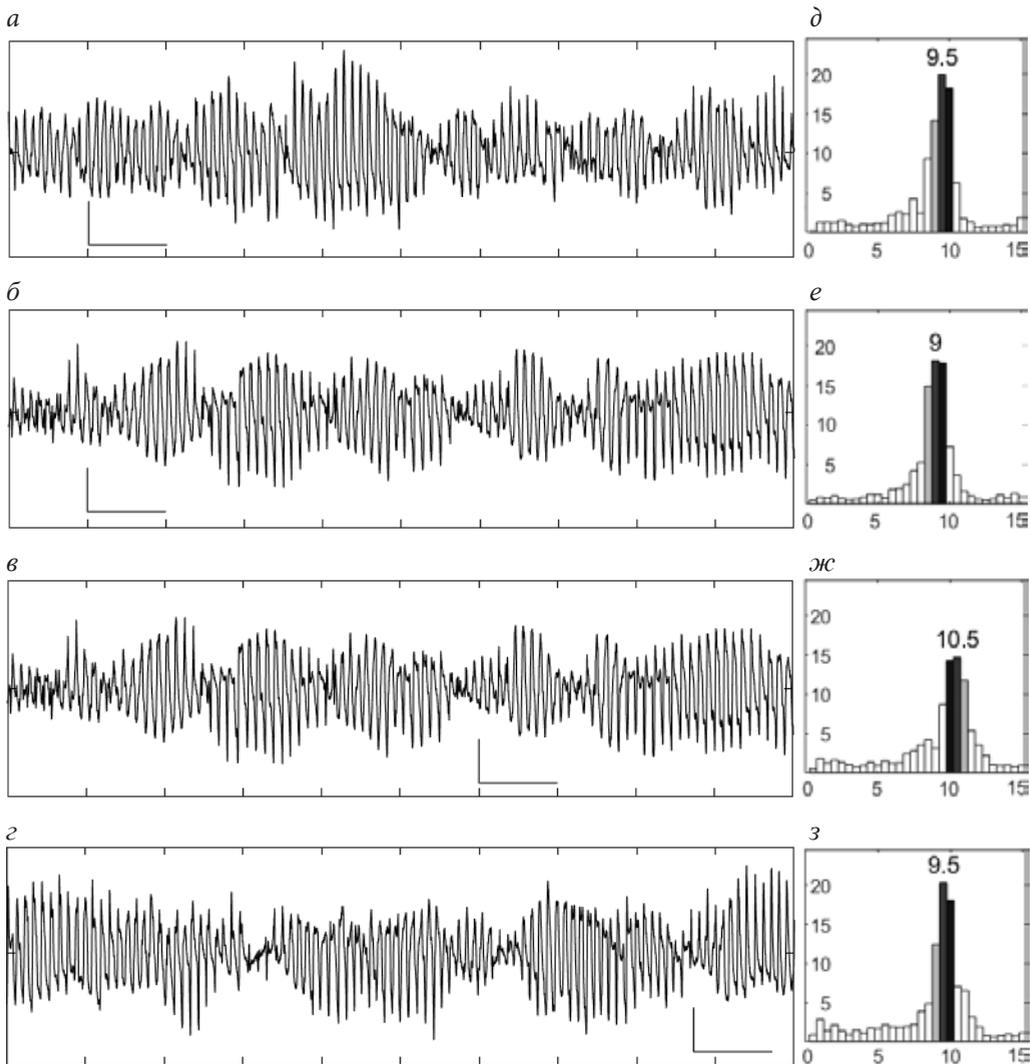


Рис. 1. Электрограммы желудочков при перфузии сердца (а), на 51–60-й секундах ишемии (б), 51–60-й и 591–600-й секундах реперфузии при фибрилляции желудочков собаки (в, г) и спектрограммы электрограмм (д–з). Калибровка электрограммы: 2 мВ; 1 с. На спектрограммах: по оси абсцисс — частота, Гц; по оси ординат — амплитуда, мВ

Доминантная структура, выявленная при перфузии, ишемии и реперфузии сердца репрезентативной собаки во время ФЖ (рис. 1), является достоверной для всех собак. При перфузии осцилляции частотой 9, 9,5 и 10 Гц стоят на 1–3-м местах по спектральной мощности, при этом осцилляции частотой 9–10 Гц, занимающие 1/10 диапазона 0,5–15 Гц, содержат 32 % спектральной мощности и доминируют в структуре частот осцилляций (рис. 2, а).

На 1-й минуте ишемии частота осцилляций 1–3-й частот снижается до 8,5–9,5 Гц ($p < 0,01$), а удельный вес возрастает до 34 % ($p > 0,05$) (рис. 2, б).

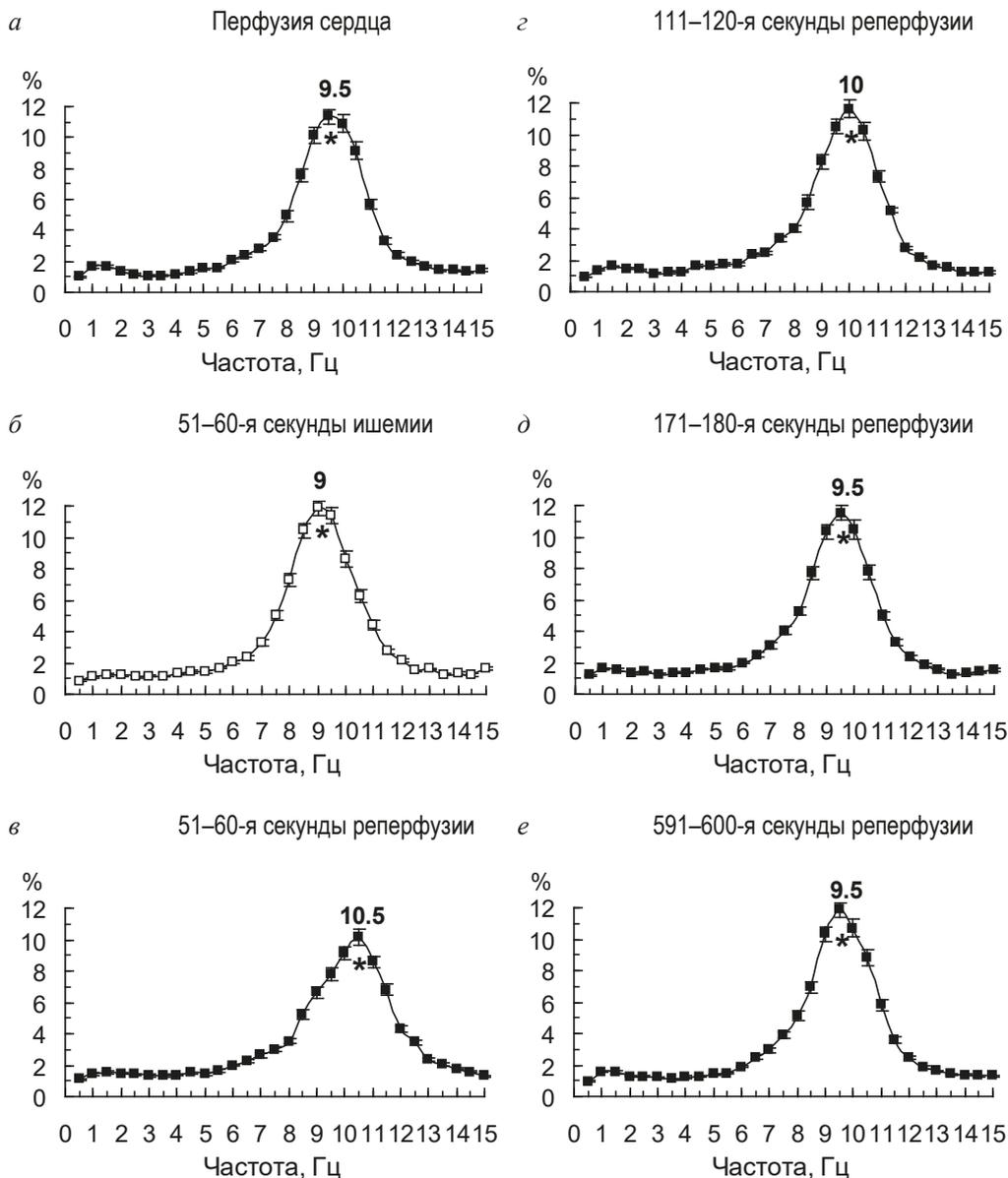


Рис. 2. Удельный вес осцилляций частотой 0,5–15 Гц при перфузии (а), на 1-й минуте ишемии (б) и 1–10-й минутах реперфузии (в–е) сердца собаки при фибрилляции желудочков. $M \pm m$, $n = 60$; * $p < 0,01$ при сравнении 1–3-й частот с остальными частотами

На 1-й минуте реперфузии частота осцилляций 1–3-й частот возрастает до 10–11 Гц ($p < 0,01$), а удельный вес снижается до 28 % ($p < 0,01$) (рис. 2, в). На 2-й минуте реперфузии частота осцилляций 1–3-й частот снижается до 9,5–10,5 Гц ($p < 0,01$), а удельный вес возрастает до 32 % ($p < 0,01$) (рис. 2, з). На 3–10-й минутах реперфузии осцилляции частотой 9–10 Гц содержат 32–33 % спектральной мощности и доминируют в структуре частот осцилляций (рис. 2, д, е).

Обсуждение

Нами выявлена доминантная структура частот осцилляций фибрилляции при перфузии, ишемии и реперфузии сердца во время ФЖ (см. рис. 1, 2), что свидетельствует об организованной (синхронизированной) активности сердца. Если бы кардиомиоциты генерировали потенциалы действия в случайном порядке и независимо друг от друга, то эти потенциалы, случайно суммируясь, давали бы случайный суммарный процесс с равномерно распределенной спектральной плотностью в диапазоне 0,5–15 Гц.

Частота доминирующих осцилляций снижается всего на 0,5 Гц при 1-минутной ишемии во время ФЖ (рис. 2, а, б), что указывает на то, что 10-минутная перфузия, предшествующая ишемии, повышает устойчивость организованной структуры ФЖ к ишемии. В подтверждение следует отметить, что частота доминирующих осцилляций ФЖ снижается на 4–5 Гц при 1-минутной ишемии при свободном развитии ФЖ, когда ишемии во время ФЖ предшествуют гемодинамически эффективные сокращения сердца [5, 6].

Реперфузия приводит к транзиторному повышению частоты и снижению удельного веса доминирующих осцилляций на 1-й минуте реперфузии (рис. 2, б–в). Если удельный вес доминирующих осцилляций ФЖ использовать как количественный параметр организованной активности, то снижение удельного веса доминирующих осцилляций от 34 до 28 % отражает не менее чем 15-процентное снижение организованной активности ФЖ на 1-й минуте реперфузии во время фибрилляции.

На наш взгляд, транзиторные эффекты реперфузии следует рассматривать как реперфузионные осложнения, так как эти эффекты отражают дестабилизацию частотно-амплитудной структуры ФЖ. Можно предположить, что кратковременная (импульсная) дестабилизация ФЖ при реперфузии может препятствовать дефибрилляции, провоцируя рефибрилляцию.

Организованная структура ФЖ более чувствительна к реперфузии, чем к ишемии, что подтверждает сравнение частотно-амплитудных параметров: частота доминирующих осцилляций снижается на 0,5 Гц при ишемии и возрастает на 1,5 Гц при реперфузии, а удельный вес доминирующих осцилляций достоверно не изменяется при ишемии и снижается не менее чем на 15 % при реперфузии (см. рис. 2).

Повышение устойчивости миокарда к ишемии и реперфузионные осложнения являются актуальной проблемой [7, 8], поэтому эффекты ишемии и реперфузии, включая повышение устойчивости ФЖ к ишемии после 10-минутной перфузии при ФЖ и транзиторные эффекты реперфузии при ФЖ, впервые выявленные в нашей работе, нуждаются в дальнейшем изучении.

На наш взгляд, перфузию сердца при искусственно вызванной ФЖ можно использовать во время кардиохирургической операции, что повысит устойчивость миокарда к ишемии и предотвратит ишемические и реперфузионные осложнения, которые неизбежно развиваются при использовании кардиоплегии.

Выводы

1. 10-минутная перфузия сердца при фибрилляции желудочков повышает устойчивость организованной структуры фибрилляции к 1-минутной ишемии.

2. Реперфузия характеризуется транзиторным повышением на 1,5 Гц частоты доминирующих осцилляций и 15-процентным снижением организованной активности фибрилляции на 1-й минуте реперфузии после 1-минутной ишемии.

3. Организованная структура фибрилляции более чувствительна к реперфузии, чем к ишемии.

Литература

1. Лебедев Д. С., Михайлов Е. Н., Неминуций Н. М., Голухова Е. З., Бабокин В. Е., Березницкая В. В., Васичкина Е. С., Гарькина С. В., Голицын С. П., Давтян К. В., Дупляков Д. В., Заклязьминская Е. В., Зенин С. А., Иваницкий Э. А., Ильдарова Р. А., Комолятова В. Н., Костарева А. А., Кучинская Е. А., Лайович (Нестеренко) Л. Ю., Лебедева В. К., Любимцева Т. А., Макаров Л. М., Мамчур С. Е., Медведев М. М., Миронов Н. Ю., Митрофанова Л. Б., Попов С. В., Ревивили А. Ш., Рзаев Ф. Г., Романов А. Б., Татарский Р. Б., Термосесов С. А., Уцумева М. Д., Харлап М. С., Царегородцев Д. А., Школьникова М. А., Шлевков Н. Б., Шляхто Е. В., Шубик Ю. В., Яшин С. М. Желудочковые нарушения ритма. Желудочковые тахикардии и внезапная сердечная смерть. Клинические рекомендации 2020 // Российский кардиологический журнал. 2021. Т. 26, № 7. С. 128–189. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4600>.
2. Hayashi M., Shimizu W., Albert C. M. The spectrum of epidemiology underlying sudden cardiac death // *Circ. Res.* 2015. Vol. 116, no. 12. P. 1887–1906.
3. Гурьянов М. И., Яблонский П. К. Стационарные колебания организованной активности фибрилляции желудочков сердца собаки // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2022. Т. 17, вып. 2. С. 101–108. <https://doi.org/10.21638/spbu11.2022.203>.
4. Гурьянов М. И., Яблонский П. К. Метод мониторинга частотно-амплитудных параметров фибрилляции желудочков при искусственной перфузии сердца // Медицинская техника. 2020. № 5. С. 19–21.
5. Гурьянов М. И. Доминантная и бездоминантная структура фибрилляции желудочков собаки с ишемией миокарда до фибрилляции // Бюл. экспер. биол. 2016. Т. 161, № 2. С. 186–189.
6. Li L., Zheng X., Dossdall D. J., Huang J., Pogwizd S. M., Ideker R. E. Long-duration ventricular fibrillation exhibits 2 distinct organized states // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2013. Vol. 6. P. 1192–1199.
7. Baehr A., Klymiuk N., Kupatt C. Evaluating novel targets of ischemia reperfusion injury in pig models // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. P. 4749. <https://doi.org/10.3390/ijms20194749>.
8. Jennings R. B. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury // *Circ. Res.* 2013. Vol. 113. P. 428–438. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300987>.
9. Masse S., Farid T., Dorian P., Umapathy K., Nair K., Asta J., Ross H., Rao V., Sevapsidis E., Kumaraswamy N. Effect of global ischemia and reperfusion during ventricular fibrillation in myopathic human hearts // *Am. J. Physiol.* 2009. Vol. 297. P. H1984–H1991. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00101.2009>.
10. Bradley C. P., Clayton R. H., Nash M. P., Mourad A., Hayward M., Paterson D. J., Taggart P. Human ventricular fibrillation during global ischemia and reperfusion. Paradoxical changes in activation rate and wavefront complexity // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2011. Vol. 4. P. 684–691. <https://doi.org/10.1161/circep.110.961284>.
11. Gebhard M. M., Bretschneider H. J., Schnabel P. A. Cardioplegia: principles and problems // *Physiology and pathophysiology of the heart.* Boston: Kluwer Academic Publishers, 1989. P. 655–669.
12. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen // *Pflüg. Arch.* 1895. Vol. 61. P. 291–332.
13. The R Project for Statistical Computing. URL: <https://www.r-project.org/> (дата обращения: 20.03.2023).

Статья поступила в редакцию 24 марта 2023 г.;
рекомендована к печати 10 мая 2023 г.

Контактная информация:

Яблонский Петр Казимирович — д-р мед. наук, проф.; glhirurb2@mail.ru
Гурьянов Марат Ильич — д-р мед. наук, проф.; mgurianov@yandex.ru

Organized activity of canine ventricular fibrillation under reperfusion after 1-minute ischemia of the heart

P. K. Yablonsky, M. I. Gurianov

St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Health Ministry of Russia,
2–4, Ligovskiy pr., St. Petersburg, 191036, Russian Federation
St. Petersburg State University,
7–9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

For citation: Yablonsky P. K., Gurianov M. I. Organized activity of canine ventricular fibrillation under reperfusion after 1-minute ischemia of the heart. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*, 2023, vol. 18, issue 2, pp. 141–149. <https://doi.org/10.21638/spbu11.2023.203> (In Russian)

Ventricular fibrillation is the most common cause of sudden cardiac death and continues to be an urgent problem. The aim of the paper was to study the organized activity of canine ventricular fibrillation under 1-minute ischemia and 10-minute reperfusion of the heart. A ventricular electrogram was recorded and spectral analysis of 10-second segments of the electrogram was performed under perfusion, ischemia, and reperfusion of the heart in fibrillation using Fast Fourier Transform at 30 frequencies in the range of 0.5–15 Hz. Specific gravity of 0.5–15-Hz oscillations was determined under perfusion, ischemia, and reperfusion in fibrillation. Ventricular fibrillation is characterized by organized activity during perfusion, ischemia, and reperfusion as evidenced by dominant frequency structure. Perfusion of the heart during ventricular fibrillation increases the stability of the organized structure of fibrillation to ischemia: under 1-minute ischemia after 10-minute perfusion, the frequency of dominant oscillations decreases by only 0.5 Hz while organized activity does not decrease. Reperfusion in fibrillation is characterized by the transient 1.5-Hz increase of frequency of dominant oscillations and by a 15 % decrease of organized fibrillation activity at the 1st minute of reperfusion after 1 minute of ischemia. The organized structure of fibrillation is more sensitive to reperfusion than to ischemia.

Keywords: ventricular fibrillation, organized activity of fibrillation, heart perfusion, heart ischemia, heart reperfusion, organized activity of ventricular fibrillation, reperfusion complications.

References

1. Lebedev D. S., Mikhailov E. N., Neminuschiy N. M., Golukhova E. Z., Babokin V. E., Berezniatskaya V. V., Vasichkina E. S., Garkina S. V., Golitsyn S. P., Davtyan K. V., Duplyakov D. V., Zaklyazminskaya E. V., Zenin S. A., Ivanitsky E. A., Ildarova R. A., Komolyatova V. N., Kostareva A. A., Kuchinskaya E. A., Lajovich (Nesterenko) L. Yu., Lebedeva V. K., Lyubimtseva T. A., Makarov L. M., Mamchur S. E., Medvedev M. M., Mironov N. Yu., Mitrofanova L. B., Popov S. V., Revishvili A. S., Rzayev F. G., Romanov A. B., Tatarsky R. B., Termosov S. A., Utsumueva M. D., Kharlap M. S., Tsaregorodtsev D. A., Shkolnikova M. A., Shlevkov N. B., Shlyakhto E. V., Shubik Yu. V., Yashin S. M. Ventricular arrhythmias. Ventricular tachycardias and sudden cardiac death. 2020 Clinical guidelines. *Russian Journal of Cardiology*, 2021, vol. 26, no. 7, pp. 128–189. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4600>. (In Russian)
2. Hayashi M., Shimizu W., Albert C. M. The spectrum of epidemiology underlying sudden cardiac death. *Circ. Res.*, 2015, vol. 116, no. 12, pp. 1887–1906.
3. Gurianov M. I., Yablonsky P. K. Stationary fluctuations of organized activity of ventricular fibrillation of the canine heart. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*, 2022, vol. 17, issue 2, pp. 101–108. <https://doi.org/10.21638/spbu11.2022.203>. (In Russian)
4. Gurianov M. I., Yablonsky P. K. Monitoring the frequency and amplitude parameters of ventricular fibrillation during artificial perfusion of the heart. *Biomed. Eng.*, 2021, vol. 54, pp. 323–326. <https://doi.org/10.1007/s10527-021-10031-z>. (In Russian)

5. Guryanov M. I. Dominant and non-dominant structure of ventricular fibrillation in canine heart. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, vol. 160, no. 3, pp. 291–294. (In Russian)
6. Li L., Zheng X., Dossall D. J., Huang J., Pogwizd S. M., Ideker R. E. Long-duration ventricular fibrillation exhibits 2 distinct organized states. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.*, 2013, vol. 6, pp. 1192–1199.
7. Baehr A., Klymiuk N., Kupatt C. Evaluating novel targets of ischemia reperfusion injury in pig models. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, p. 4749. <https://doi.org/10.3390/ijms20194749>.
8. Jennings R. B. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ. Res.*, 2013, vol. 113, pp. 428–438. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.300987>.
9. Masse S., Farid T., Dorian P., Umapathy K., Nair K., Asta J., Ross H., Rao V., Sevaptsidis E., Kumaraswamy N. Effect of global ischemia and reperfusion during ventricular fibrillation in myopathic human hearts. *Am. J. Physiol.*, 2009, vol. 297, pp. H1984–H1991. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00101.2009>.
10. Bradley C. P., Clayton R. H., Nash M. P., Mourad A., Hayward M., Paterson D. J., Taggart P. Human ventricular fibrillation during global ischemia and reperfusion. Paradoxical changes in activation rate and wavefront complexity. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.*, 2011, vol. 4, pp. 684–691. <https://doi.org/10.1161/circep.110.961284>.
11. Gebhard M. M., Bretschneider H. J., Schnabel P. A. Cardioplegia: principles and problems. *Physiology and pathophysiology of the heart*. Boston, Kluwer Academic Publishers, 1989, pp. 655–669.
12. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. *Pflüg. Arch.*, 1895, vol. 61, pp. 291–332.
13. The R Project for Statistical Computing. Available at: <https://www.r-project.org/> (accessed: 20.03.2023).

Received: March 24, 2023

Accepted: May 10, 2023

Authors' information:

Piotr K. Yablonsky — MD, Professor; glhirurgb2@mail.ru

Marat I. Gurianov — MD, Professor; mgurianov@yandex.ru