Ультраструктурные признаки кардиотоксичности наночастиц золота в эксперименте *in vivo*

В.А.Липатова[1], В.М.Ботчей[1], Т.В.Писцова[1], В.А.Федосеев[1], А.В.Клочкова[1], В.К.Беляков[2], Е.П.Сухенко[2], В.Б.Суслов[1], И.А.Василенко[1], С.А.Румянцев[1,3,4], А.П.Эттингер[1], С.И.Куцев[1]

[1]Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва (ректор — проф. А.Г.Камкин);
[2]ООО «Весттрэйд ЛТД», Москва (генеральный директор — В.К.Беляков);
[3]Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва (директор — акад. РАМН, проф. А.Г.Румянцев);
[4]Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва (ректор — чл.-кор. РАН, проф. Н.Н.Кудрявцев)

С целью изучения влияния наночастиц золота диаметром 2 нм на ультраструктуру миокарда проведено электронно-микроскопическое изучение образцов миокарда мышей после длительного перорального введения наночастиц золота. Выявлено, что при пероральном введении наночастиц золота даже в минимальной изученной концентрации (10 мкг/мл) уже в ранние сроки эксперимента (7 сут) наблюдается умеренно выраженный цитотоксический эффект с изменением ультраструктуры всех компонентов миокарда. При этом выраженность дистрофических изменений возрастала по мере увеличения срока эксперимента, но грубых повреждений миокарда в виде очагов некроза не было обнаружено ни при одном сроке наблюдения. На ультраструктурном уровне описаны изменения микроциркуляторного русла, интерстиция и кардиомиоцитов в зависимости от концентрации вводимого препарата и сроков эксперимента. Описанные дистрофические изменения миокарда, вызванные введением наночастиц золота, способны приводить к морфофункциональной несостоятельности работы сердца.
Ключевые слова: кардиотоксичность, наночастицы золота, ультраструктурные повреждения

Ultrastructural Evidence of Gold Nanoparticles Cardiotoxicity in Experiments *In Vivo*

V.A.Lipatova[1], V.M.Botchey[1], T.V.Pistsova[1], V.A.Fedoseev[1], A.V.Klochkova[1], V.K.Belyakov[2], E.P.Sukhenko[2], V.B.Suslov[1], I.A.Vasilenko[1], S.A.Rumyantsev[1,3,4], A.P.Oettinger[1], S.I.Kutsev[1]

[1]Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow (Rector — Prof. A.G.Kamkin);
[2]OOO «Westtrade LTD», Moscow (General Director — V.K.Belyakov);
[3]Federal Research and Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after D.Rogachev, Moscow (Director — Acad. of RAMS, Prof. A.G.Rumyantsev);
[4]Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Moscow (Rector — Corr. Member of RAMS. Prof. N.N.Kudryavtsev)

There was conducted an electron microscopy of myocardial samples in mice after extended oral administration of gold nanoparticles with the aim of investigation of the effect of gold nanoparticles with a diameter of 2 nm to myocardial ultrastructure. It was shown that oral administration of gold nanoparticles even in the minimal tested dose (10 mg/ml) already at the early stages of the experiment (7 days) leads to a moderately pronounced cytotoxic effect with ultrastructural changes in all components of the myocardium. The severity of degenerative changes increased with the extension of the experiment, but the rough myocardial damage (necrosis) was not found at any time of the observation. There were described at unltractructural level changes in microcirculation, interstitium and cardiomyocytes, depending on the concentration of the administered drug and the phase of the experiment. Described degenerative changes in the myocardium caused by the introduction of gold nanoparticles can lead to morphological and functional failure of the heart.
Keywords: cardiac toxicity, gold nanoparticles, ultrastructural damage

Наночастицы золота используются во многих областях медицины для доставки генов и белков, получения изображений биологических объектов, лечения опухолей, создания имплантатов (например, стентов и искусственных водителей ритма). Широкий спектр применения нанозолота обусловлен простотой синтеза наночастиц, их стабильностью и легкостью присоединения к ним различных функциональных групп для улучшения свойств таргетно-

сти (адресной доставки) [1]. Кроме того, золото используется как противовоспалительное и противоревматическое средство (Auranofin® и Tauredon®) [1]. Относительная стабильность связи лиганд-золото вне клетки и наоборот, снижение стабильности этой связи внутри клетки (частично из-за высокой концентрации глутатиона внутри клетки) позволяют отнести наночастицы золота к хорошим кандидатам для транспортировки лекарственных средств и их высвобождения [2].

Сферические наночастицы коллоидного золота используются уже десятилетия. Однако в ряде работ представлены данные о токсичности золота для организма, в котором оно подвергается окислению или становится растворимым в связи с цианидацией [3]. Установлено, что золото обладает нефротоксичностью и может вызывать эриптоз (запрограммированную гибель эритроцитов) [4]. Исследования подтвердили, что размер, заряд поверхности и форма наночастиц золота являются ключевыми факторами, потенциально определяющими развитие токсичности применяемых в медицине золотосодержащих комплексов.

Y.Pan и соавт. [5] исследовали цитотоксичность наночастиц золота в зависимости от их размера. Авторы обнаружили, что наночастицы размером 1,4 нм приводят к повышению уровня цитотоксичности (IC_{50} = 30 и 46 мкМ), тогда как степень цитотоксичности, вызываемая наночастицами золота размером 0,8; 1,2 и 1,8 нм, в 4–6 раз меньше. Авторы установили, что нанокластеры золота размером 1,4 нм селективно и необратимо связываются с большой бороздой B-ДНК и вызывают значительно большую степень токсичности, чем более крупные частицы.

Более крупные наночастицы золота (15 нм) не оказывают цитотоксического действия даже при высоких концентрациях (6,3 мМ). Более того, B.D.Chithrani и соавт. [6] исследовали транспорт наночастиц золота размером 14, 50 и 74 нм в клетки линии HeLa и обнаружили, что сферические частицы размером 50 нм быстрее поступают внутрь клетки эндоцитозом, чем более мелкие или более крупные.

Таким образом, наночастицы золота широко применяются в медицине и традиционно рассматриваются как нетоксичные. Однако все большее количество исследований свидетельствует о потенциальной токсичности наночастиц золота, обусловленной их размерами, зарядом поверхности и формой. К сожалению, большая часть данных о токсичности наночастиц золота получена в экспериментах *in vitro* и их безопасность для живых систем достоверно не исследована. Воздействие препаратов коллоидного золота на сердце *in vivo* практически не изучено [7, 8].

Целью настоящего исследования было изучение ультраструктурных изменений миокарда при пероральном введении наночастиц золота сферической формы и диаметром 2 нм в хроническом эксперименте.

Для корреспонденции:

Куцев Сергей Иванович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 434-0037
E-mail: kutsev@mail.ru

Статья поступила 16.04.2013, принята к печати 04.09.2013

Материалы и методы

В эксперименте использовали водный раствор наночастиц золота с концентрацией наночастиц в пересчете на ионы золота 0,19 мМ или в пересчете на весовое содержание золота 0,038 г/л (38 мкг/мл) с pH раствора 8,1 (НПК «Нанамет», Москва, Россия). В соответствии с техническим паспортом наночастицы золота имели сферическую форму и диаметр d ~ 2,05 ± 1,64 нм (82%). Матричный раствор содержал поверхностно-активное вещество (АОТ) бис(2-этигексил) сульфосукцинат натрия в концентрации 24 мМ (САОТ = 24 мМ).

Исследование выполнено на белых нелинейных мышах (масса тела 20–25 г). Растворы наночастиц в конечных концентрациях 10, 50 и 100 мкг/мл давали вместо питьевой воды, ежедневно регистрируя количество выпитой жидкости во всех группах. В контрольной группе в качестве питья использовали дистиллированную воду. Одна мышь в среднем выпивала за день 2,36 мл жидкости без достоверной разницы между группами, что соответствует физиологической норме. Экспериментальных животных и животных контрольной группы забивали декапитацией на 7, 14, 21 и 28-е сутки эксперимента. Всего было исследовано 28 экспериментальных животных. Для электронной микроскопии миокард фиксировали в 2% растворе глютарового альдегида, дофиксировали в 1% растворе четырехокиси осмия и после обезвоживания в спиртах восходящей концентрации и ацетоне материал заливался в аралдит [9]. После прицельной заточки блоков получали ультратонкие срезы на ультрамикротоме Ultracut (Reicherd-Jung), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца [10] и просматривали в электронном микроскопе HU-12A (Hitachi).

Результаты исследования и их обсуждение

Электронно-микроскопическое изучение миокарда во все сроки эксперимента при пероральном введении различных концентраций наночастиц золота позволило отметить значительные изменения ультраструктуры всех компонентов миокарда: микроциркуляторного русла, интерстиция и собственно кардиомиоцитов.

Через 7 сут после введения препарата в концентрации 10 мкг/мл наблюдалось увеличение поверхности контакта эндотелия с кровью, что выражалось в появлении большого количества выростов на люминальной поверхности эндотелиоцитов (рис. 1, а). В эндотелиальных клетках отмечались многочисленные пиноцитозные везикулы и истончение участков цитоплазмы. Обнаруженные выше факты являются косвенным указанием на увеличение интенсивности обмена между кровью и другими тканевыми компонентами миокарда. В эндотелии также можно было наблюдать скопление электронно-плотных частиц, которые, возможно, являются агрегатами наночастиц коллоидного золота, нарушающими непрерывность эндотелиальной выстилки капилляров (рис. 1, б). Описанные изменения носят мозаичный характер, так как наряду с этим встречаются эндотелиоциты, характерные для интактного миокарда, что свидетельствует о гетерогенности функционального состояния эндотелия. Разные типы эндотелиоцитов часто образуют выстилку одного

капилляра, при этом между подобными клетками сохраняются контакты с частично измененными десмосомами. Ядра эндотелиоцитов характеризуются извитыми контурами кариолеммы, содержат 1–2 ядрышка с умеренно выраженным гранулярным компонентом, отчетливую полосу маргинально конденсированного хроматина. В хроматине обнаруживаются конгломераты мелких частиц повышенной электронной плотности, которые, по-видимому, являются наночастицами золота. Отмечается отечность перикапиллярного пространства. В просвете капилляров видны деформированные эритроциты, утратившие характерную для них форму, что, возможно, обусловлено нарушением структуры цитоскелета этих форменных элементов крови. Нередко определяется сладж эритроцитов.

В стенке сосудов распределительного типа (артериолы или прекапилляры) также отмечены ультраструктурные признаки активации трансэндотелиального транспорта: многочисленные микроворсинки на поверхности эндотелиоцитов и большое количество пиноцитозных везикул (рис. 1, в). Обращают на себя внимание гипертрофированные гладкомышечные клетки, в которых визуализируются актиновые и миозиновые филаменты. Данное обстоятельство служит указанием на повышенную функциональную активность лейомиоцитов, которая может приводить к перераспределению внутриорганного кровотока.

Со стороны интерстиция происходят изменения соединительной ткани по ходу сосудистого русла. Можно отметить увеличение межклеточного пространства, содержащего разволокненные, иногда фрагментированные пучки коллагеновых волокон и немногочисленные клеточные элементы. Среди них особого внимания заслуживают активированные макрофаги (рис. 2, а) и клетки фибробластического ряда (рис. 2, б). Активированные макрофаги содержат в цитоплазме многочисленные фагосомы, первичные и вторичные лизосомы. По-видимому, активация макрофагов обусловлена деструкцией волокнистых структур соединительнотканного каркаса миокарда вследствие выраженного межуточного отека. Этим же обстоятельством объясняются наблюдаемые ультраструктурные признаки компенсаторной активации биосинтетической функции фибробластов. В их цитоплазме видны цистерны хорошо развитой гранулярной эндоплазматической сети и многочисленные рибосомы, что свидетельствует об активном белковом синтезе. Среди форменных элементов крови в интерстиции часто встречаются эозинофилы (рис. 2, в). Описанные признаки указывают на интенсивный интерстициальный отек, сопряженный с изменением проницаемости микрососудов. В кардиомиоцитах, которые в целом сохранны, наблюдается значительное расширение цистерн саркоплазматической сети (рис. 2, г). Митохондрии и миофибриллы практически не изменены. В некоторых участках кардиомиоцитов можно наблюдать миофибриллы, которые имеют изгибы и отличную от других ориентацию. Отмечаются незначительные изменения вставочных дисков, представленные расширением межмембранного пространства в области десмосом (рис. 2, д).

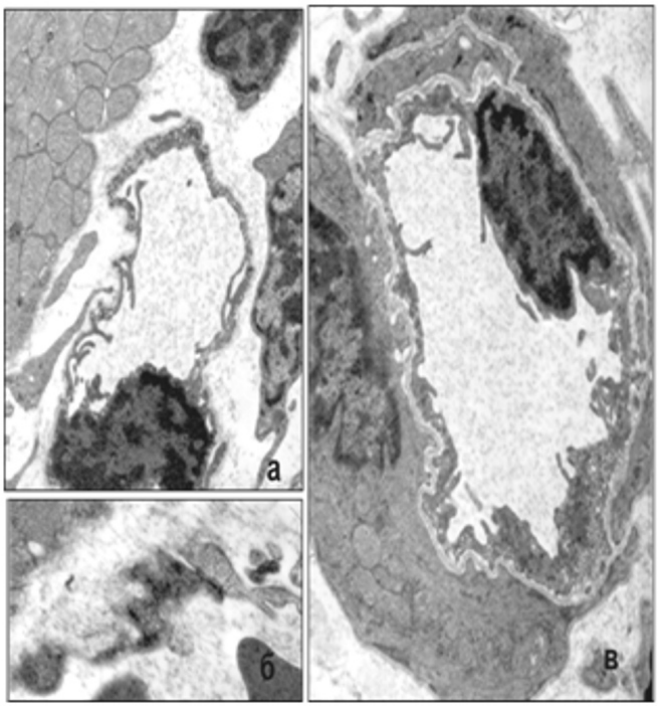

Рис. 1. **Ультраструктура микроциркуляторного русла миокарда через 7 сут после ежедневного введения 10 мкг/мл наночастиц золота диаметром 2 нм:** а — кровеносный капилляр. Ультраструктурные признаки активации трансэндотелиального транспорта. × 7000; б — накопление наночастиц золота в эндотелии, деструкция эндотелиоцита. × 29000; в — артериола. На поверхности эндотелиоцитов множество микроворсинок, в цитоплазме — пиноцитозных везикул. Гипертрофия лейомиоцита. × 10000.

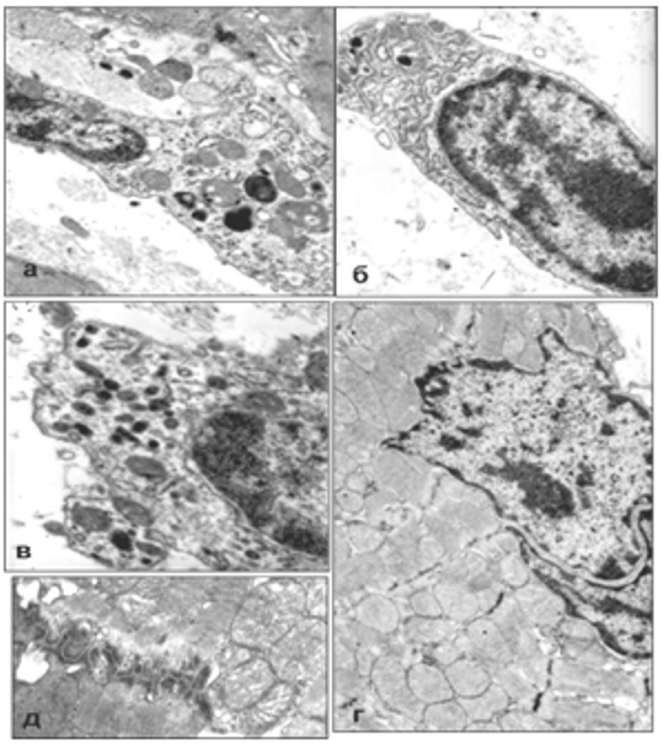

Рис. 2. **Ультраструктура интерстиция и кардиомиоцитов через 7 сут после ежедневного введения 10 мкг/мл наночастиц золота диаметром 2 нм:** а — ультраструктура активированного макрофага. × 10000; б — ультраструктура активированного фибробласта. × 9000; в — ультраструктура эозинофильного лейкоцита. × 18000; г — сохранная ультраструктура кардиомиоцита. × 9000; д — ультраструктура вставочного диска. Видны расширения межмембранного пространства. × 18000.

С увеличением экспозиции препарата до 28 дней в концентрации 10 мкг/мл отмечались изменения со стороны капиллярного русла. Капилляры спадаются, резко уменьшая просвет. В эндотелиоцитах наблюдаются дегенеративные изменения (рис. 3, а). Форменные элементы крови в капиллярах практически отсутствуют. Люминальная поверхность клеток сильно деформирована. Интерстициальный отек уменьшается по сравнению с ранними сроками введения препарата. В интерстиции видны разволокненные пучки коллагеновых волокон, идущих в разных направлениях.

Структура кардиомиоцитов характеризуется деструктивными изменениями, сопровождающимися вакуолизацией эндоплазматической сети и митохондрий (рис. 3, б). Отмечено также истончение и частичное разрушение миофибрилл (рис. 3, в). Эти изменения могут свидетельствовать о существенном нарушении процессов трофики миокарда.

При введении препарата в концентрации 100 мкг/мл на 7-е сутки со стороны микроциркуляторного русла отмечаются умеренная реактивность эндотелиальных клеток, практически нормальный просвет капилляров. Интерстициальный отек присутствует, но в гораздо меньшей степени, чем при концентрации 10 мкг/мл (рис. 4, а). В кардиомиоцитах — незначительные расширения цистерн саркоплазматической сети и изменения в митохондриях (рис. 4, б). Митохондрии отечны, в них наблюдается деструкция крист внутренней мембраны.

При введении препарата в концентрации 100 мкг/мл на 28-е сутки интерстициальный отек практически отсутствует. Кровеносные капилляры не содержат форменных элементов крови (рис. 4, в), что может свидетельствовать о малом кровенаполнении данного участка сердца и возникновении ишемии миокарда. В эндотелиоцитах определяются очаги деструкции цитоплазмы, однако непрерывность эндотелия сохранена. В кардиомиоцитах видны признаки деструктивных изменений митохондрий в виде их набухания, исчезновения внутренней мембраны, отмечено расширение цистерн саркоплазматической сети, умеренно выраженный лизис миофиламентов в миофибриллах (рис. 4, б), а также разрушение контактов в составе вставочных дисков.

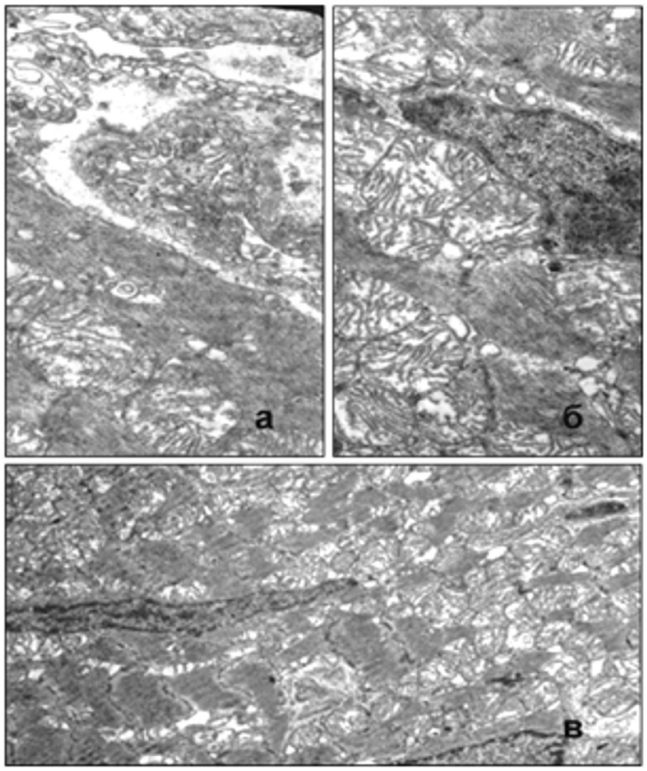

Рис. 3. **Ультраструктура миокарда через 28 сут после ежедневного введения 10 мкг/мл наночастиц золота диаметром 2 нм:** а — деструкция эндотелия капилляров. × 12000; б — деструкция мембранных органелл кардиомиоцита. × 15000; в — миоцитолизис. × 8000.

Заключение

Как показали результаты электронно-микроскопических исследований миокарда, после перорального введения коллоидного раствора наночастиц золота размером 2 нм наблюдается цитотоксический эффект даже при их введении в минимальной изученной концентрации — 10 мкг/мл и при минимальном сроке наблюдения — 7 сут. Ультраструктурные изменения были выявлены во всех тканевых компонентах миокарда. Прежде всего, обращают на себя внимание морфологические изменения стенки сосудов микроциркуляторного русла и, по-видимому, связанные с ними дисциркуляторные нарушения. Возможно, выявленный кардиотоксический эффект наночастиц золота обусловлен именно этим обстоятельством. В эндотелии капилляров были обнаружены

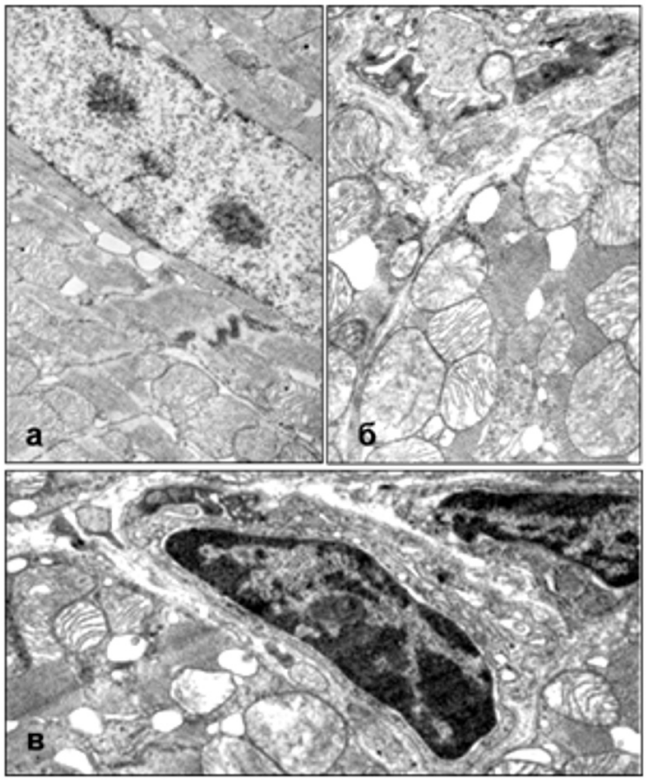

Рис. 4. **Ультраструктура миокарда через 7 (а, б) и 28 (в) сут после ежедневного введения 100 мкг/мл наночастиц золота диаметром 2 нм:** а — ультраструктура кардиомиоцита: расширение цистерн саркоплазматической сети, деструкция крист митохондрий. × 9000; б — деструкция эндотелия капилляров. Дистрофические изменения кардиомиоцита. × 12000; в — отсутствие просвета капилляра, дистрофические изменения эндотелиоцитов капилляра. Деструкция митохондрий и саркоплазматической сети кардиомиоцита. × 10000.

дистрофические изменения в местах скопления наночастиц золота, отмечено увеличение количества микроворсинок эндотелия, показана резкая активация пиноцитоза. Все эти признаки указывают на усиление процессов трансэндотелиального транспорта, увеличение проницаемости капилляров и, как следствие, развитие перикапиллярного и интерстициального отека с последующими дистрофическими изменениями кардиомиоцитов. Сладж эритроцитов подтверждает наличие дисциркуляторных изменений в миокарде. Тем не менее изменения в цитоплазме и ядрах кардиомиоцитов могут быть обусловлены и непосредственным воздействием наночастиц золота. Так, нами обнаружены скопления электронно-плотных частиц, которые, возможно, являются кластерами наночастиц золота в ядре и цитоплазме кардиомиоцитов.

При этом следует отметить, что выраженных, грубых повреждений миокарда в виде очагов некроза не обнаружено ни при одном сроке наблюдения. Можно лишь отметить, что дистрофические изменения более выражены к 28-м суткам эксперимента и затрагивают сократительный аппарат (лизис саркомеров миофибрилл) и мембранные структуры (деструкция крист митохондрий, цистерн саркоплазматической сети). Одним из возможных механизмов токсического эффекта непосредственно наночастиц золота может быть активация процессов перекисного окисления липидов, образование свободных радикалов с последующей деструкцией биологических мембран и повреждением клеток.

Таким образом, описанные выше дегенеративные изменения миокарда при пероральном введении наночастиц золота размером 2 нм могут приводить к морфофункциональной несостоятельности работы сердца в целом.

Литература

1. Murphy C.J., Gole A.M., Stone J.W. et al. Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging // Acc Chem Res. 2008. V.41 (12). P.1721–1730.
2. Chompoosor A., Han G., Rotello V.M. Charge dependence of ligand release and monolayer stability of gold nanoparticles by biogenic thiols // Bioconjug Chem. 2008. V.19 (7). P.1342–1345.
3. Graham G.G., Whitehouse M.W., Bushell G.R. Aurocyanide, dicyano-aurate (I), a pharmacologically active metabolite of medicinal gold complexes // Inflammopharmacology. 2008. V.16 (3). P.126–132.
4. Sopjani M., Föller M., Lang F. Gold stimulates Ca^{2+} entry into and subsequent suicidal death of erythrocytes // Toxicology. 2008. V.28 (244). P.271–279.
5. Pan Y., Neuss S., Leifert A. et al. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles // Small. 2007. V.3 (11). P.1941–1949.
6. Chithrani B.D., Ghazani A.A., Chan W.C. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells // Nano Lett. 2006. V.6 (4). P.662–668.
7. Lasagna-Reeves C., Gonzalez-Romero D., Barria M.A. et al. Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice // Biochem Biophys Res Commun. 2010. V.19 (393). P.649–655.
8. Abdelhalim M.A. Exposure to gold nanoparticles produces cardiac tissue damage that depends on the size and duration of exposure // Lipids Health Dis. 2011 Nov. V.10 (10). P.205.
9. Glauert A.M. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. Amsterdam: Elsevier, 1975. 207 p.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // J Cell Biol. 1963. V.17 (1). P.208–212.

Информация об авторах:

Липатова Вероника Анатольевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5447
E-mail: veronika-lipatova@yandex.ru

Ботчей Вероника Микаэловна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5447
E-mail: bonik-do@yandex.ru

Писцова Татьяна Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5447
E-mail: tpistsova@inbox.ru

Федосеев Владимир Александрович, кандидат медицинских наук, профессор кафедры морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5447
E-mail: tpistsova@inbox.ru

Клочкова Алена Владимировна, студентка медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-5447
E-mail: alenaklchkv@mail.ru

Беляков Владимир Константинович, доктор медицинских наук, генеральный директор ООО «Весттрэйд ЛТД»
Адрес: 115201, Москва, 1-й Варшавский пр-д, 1 А, стр. 9
Телефон: (495) 434-2088
E-mail: bel.vk@yandex.ru

Сухенко Евгений Пантелеевич, кандидат физико-математических наук, технический директор ООО «Весттрэйд ЛТД»
Адрес: 115201, Москва, 1-й Варшавский пр-д, 1 А, стр. 9
Телефон: (495) 434-2088
E-mail: eugens@udm.ru

Суслов Владимир Борисович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований при Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-6429
E-mail: Suslov_vb@mail.ru

Василенко Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией компьютерной цитоморфометрии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 187-6467
E-mail: vasilenko0604@gmail.com

Румянцев Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, заместитель директора по научной и учебной работе Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, заведующий кафедрой трансляционной и регенеративной медицины Московского физико-технического института
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 937-5024
E-mail: s_roumiantsev@mail.ru

Эттингер Александр Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований при Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-1401
E-mail: oett@rsmu.ru

Куцев Сергей Иванович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 434-0037
E-mail: kutsev@mail.ru