

## ПРИМЕНЕНИЕ ГОМОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ДОНОРСКИХ РОГОВИЦ ПРИ ХРАНЕНИИ В НОРМОТЕРМИЧЕСКОМ И ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ РЕЖИМАХ

*Борзенко С.А.<sup>1</sup>, Ролик О.И.<sup>1</sup>, Онищенко Н.А.<sup>2</sup>, Комах Ю.А.<sup>1</sup>, Делекторская В.В.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Росмедтехнологий, г. Москва

<sup>2</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>3</sup> Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

Исследовано защитное действие тканеспецифических регуляторных пептидов на эндотелиальные клетки (ЭК) изолированных донорских роговиц при хранении в нормотермическом (до 24 суток) и гипотермическом (до 9 суток) режимах. Проанализирована динамика ультраструктурных изменений в эндотелиальных клетках в процессе хранения, изменения их плотности, показателя гексагональности и средней площади клеток, проведена электронная микроскопия. Установлено, что тканеспецифические регуляторные пептиды оказывают защитное действие на ультраструктурную архитектуру ЭК донорских роговиц, повышают плотность межклеточных контактов, увеличивая допустимые сроки органного культивирования до 16 суток и гипотермической консервации до 9 суток.

*Ключевые слова: эндотелий роговицы, трансплантат роговицы, цитоплазматические пептиды, регуляторные пептиды, консервация роговицы.*

## THE USE OF HOMOLOGOUS CELLULAR PEPTIDES DURING MEDIUM-TERM CORNEAL ORGAN CULTURE AND CORNEAL COLD STORAGE

*Borzenok S.A.<sup>1</sup>, Rolik O.I.<sup>1</sup>, Onischenko N.A.<sup>2</sup>, Komakh Y.A.<sup>1</sup>, Delektorskaya V.V.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> The Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow

<sup>2</sup> Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

<sup>3</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

There was studied of protective effects of homologous cellular peptides on corneal graft endothelium cells during the corneal organ culture (24 days) and corneal cold storage (9 days). The dynamic of endothelial cells (EC) ultrastructural changes during the storage, decrease of endothelial cells density, percentage of hexagonal-shape cells, average area and electronic microscopy were analysed. Tissue-specific regulatory corneal peptides exhibited clear protective effect on ultra structure of grafts' endothelial cells during the preservation, increase density cell-cell contact, prolong term of organ culture (till 16 days) and cold storage (till 9 days).

*Key words: cornea endothelium cells, corneal graft, cytoplasm peptides, regulatory peptides, cornea preservation.*

*Статья поступила в редакцию 09.01.12 г.*

**Контакты:** Ролик Ольга Ивановна, аспирант Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Росмедтехнологии.

**Тел.** 8 926 677 58 05, **e-mail:** oktarin@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема трупного тканевого донорства и трансплантации жизнеспособной роговицы является одним из наиболее сложных и актуальных разделов офтальмологии [1, 3, 5, 14, 15].

Для прозрачного приживления сквозного трансплантата роговицы необходима максимальная сохранность морфофункционального состояния его эндотелиальных клеток (ЭК), обеспечивающих нормальную гидратацию и прозрачность посредством осуществления ими энергозависимой транспортной и насосной функций [14]. ЭК роговицы являются высокодифференцированными клетками и имеют нейроглиальное происхождение [2, 7, 8, 13]. Так как биологически ЭК не способны к митотической регенерации, то при их значительной потере в посттрансплантационном периоде возникает сначала функциональная декомпенсация, а затем необратимое помутнение трансплантата [14].

В изолированных трупных роговицах уже на этапе консервации в нормотермическом и гипотермическом режимах происходит дизрегуляция энергетического метаболизма, в результате чего в ЭК возникает ряд морфофункциональных перестроек, сопровождающихся ослаблением межклеточных взаимодействий, десквамацией ЭК и снижением их жизнеспособности [12, 14].

Выкраивание и фиксация роговичного трансплантата при сквозной и задней послойной кератопластиках также сопровождаются потерей ЭК, в связи с чем исходная плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) является определяющей для сохранения функции роговицы после трансплантации и по данным должна быть не менее 2800–3000 кл/мм<sup>2</sup> [15].

В этой связи пролонгирование адекватного метаболизма и повышение жизнеспособности ЭК трупных донорских роговиц на этапе их консервации является крайне важной и актуальной задачей [1].

Анализ публикаций по проблеме культивирования и консервации изолированных донорских роговиц позволяет прийти к заключению, что пролонгирование адекватного метаболизма в трансплантатах роговицы, повышающего морфофункциональную резистентность ее ЭК к воздействию ишемического и гипотермического стрессов [10], может быть достигнуто путем усовершенствования составов консервационных сред.

Наибольшие возможности в плане совершенствования противоишемической защиты и защиты от гипотермического повреждения создает включение в культуральные среды и консервирующие растворы различных биологически активных веществ, которые, пролонгируя энергетические и пластические процессы, повышают эффективность межклеточных взаимодействий и формируют плотность межклеточных контактов [16–18].

В целях восстановления и поддержания структуры и функции ЭК трупных донорских роговиц в процессе их хранения значительный интерес представляют фармакологические препараты на основе регуляторных клеточных пептидов, полученных из тканей глаза. К таким препаратам нового поколения относятся цитамины отечественного производства [4, 9] и тканевая панель препаратов NeyDIL импортного производства [6, 11]. К сожалению, отечественная фармакологическая промышленность не производит препаратов регуляторных пептидов с адресным действием к эндотелиальным клеткам роговицы. До настоящего времени единственным органотропным препаратом, полученным из регуляторных пептидов клеточной цитоплазмы эмбриональных роговых оболочек промышленных животных, является препарат NeyDIL Nr.37 «Cornea», который выпускается немецкой фирмой «VitOrgan», имеющий Государственную регистрацию в Российской Федерации.

Между тем данных о возможности повышения качества защиты изолированных трупных донорских роговиц от повреждения с помощью гомологичных регуляторных пептидов на этапе нормотермического культивирования и гипотермической консервации в литературе нет. Прямая зависимость результата трансплантации роговицы от исходной жизнеспособности и плотности сцепления ЭК между собой послужила основанием для изучения эффективности применения органотропных регуляторных пептидов роговиц – препарата NeyDIL Nr.37 для улучшения морфофункциональной сохранности ЭК и повышения резистентности трупной донорской роговицы к действию неблагоприятных факторов нормотермического органного культивирования и гипотермической консервации.

Материалы и методы

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были отобраны 40 трупных роговиц от доноров зрелого возраста (средний возраст составил  $32 \pm 4$  года). Срок ишемии роговиц (от смерти до консервации) составлял не более 12 часов.

В качестве биологически активной добавки использовали моноорганный препарат NeyDIL Nr.37, полученный из фетальных и ювенильных роговиц крупного рогатого скота и содержащий гомологичные клеточные пептиды роговицы в концентрации 100 мкг/мл.

Проведенные исследования включали две серии наблюдений. Первая серия – изучение возможности повышения качества донорских роговиц, культивированных в нормотермических условиях при +35 °C

в CO<sub>2</sub>-инкубаторе с концентрацией CO<sub>2</sub> – 5%. При этом на 20 парных роговицах от 10 доноров применялись стандартные культуральные среды с добавлением 5% декстранов, но без добавления фетальной бычьей сыворотки, чтобы исключить влияние содержащихся в ней факторов роста на эндотелий, культивированных донорских роговиц.

В первой серии наблюдались две группы: опытная (n = 10) и контрольная (n = 10). В опытной группе среда дополнительно содержала пептидный препарат NeuDIL Nr.37, в концентрации 1 мкг/мл среды. Сроки культивирования в опытной и контрольной группах составляли 8, 16 и 24 дня, в те же сроки проводился анализ морфометрических и ультраструктурных характеристик эндотелиальных клеток.

Вторая серия экспериментов была выполнена на донорских роговицах, консервированных в гипотермических условиях при +6 °С в среде Борзенка–Мороз (n = 20 пар роговиц от 10 трупных доноров) и также включала опытную (n = 10) и контрольную (n = 10) группы.

В опытной группе в среду Борзенка–Мороз добавляли пептидный препарат NeuDIL Nr.37 в дозе 1 мкг/мл среды. Сроки консервации составили 3, 6, 9 суток, в эти же сроки проводился анализ морфометрических и ультраструктурных характеристик эндотелиальных клеток с помощью электронной сканирующей и трансмиссионной микроскопии.

Электронная сканирующая микроскопия проводилась на растровом ионно-электронном микроскопе Quanta 200 3D (Голландия) с возможностью проведения исследований объектов в режиме естественной среды без применения глубокого вакуума, напыления и жесткой фиксации с помощью альдегидов, что не нарушало архитектоники и морфометрии клеток.

Для трансмиссионного электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида по стандартной методике с последующей заливкой в эпоксидную смолу ЭПОН-812. Ультратонкие и полутонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-III (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1200 EX II (Япония).

Исследования плотности ЭК (ПЭК), площади и показателя гексагональности ЭК донорских роговиц проводились неинвазивным способом с помощью компьютерного кератоанализатора для глазных банков Копап (Япония). Для подсчета ПЭК, а также для более полной оценки состояния эндотелиального пласта применялся инвертированный световой микроскоп 307 – 143.003 Leitz Wetzlar

GmbH (Германия) с цифровой камерой-окуляром DCM510 (Китай).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что в норме эндотелий роговицы характеризуется цитоплазмой, богатой органеллами, содержащей большое количество митохондрий. Обильное содержание органелл в цитоплазме обеспечивает выполнение эндотелием важнейших энергозатратных трансмембранных насосных функций, при нарушении которых роговица быстро набухает и мутнеет. Кроме того, гексагональная форма ЭК обеспечивает наибольшую прочность межклеточных контактов, и ее нарушение ведет к ослаблению межклеточного взаимодействия и снижению их функций. Поэтому при оценке результатов сохранения изолированных роговиц в нормотермическом и гипотермическом режимах мы в первую очередь обращали внимание на ультраструктурную сохранность митохондриального аппарата эндотелиальных клеток, а также на особенности их морфометрических характеристик.

### Культивирование роговиц в нормотермических условиях

На 8-е сутки культивирования роговиц трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) не выявила ультраструктурных отличий между опытной и контрольной группой. Ультраструктура митохондриальных крист и мембран эндотелия обеих групп соответствовала норме (рис. 1, а, б). На 16-е сутки культивирования в контрольной группе отмечалась отечность митохондриальных мембран, выявлялись равномерно вымытый митохондриальный матрикс и небольшая сглаженность митохондриальных крист (рис. 1, г). В опытной группе на 16-е сутки изменений в митохондриальных мембранах и кристах не было обнаружено (рис. 1, в). Наибольшая разница между опытной и контрольной группами проявилась на 24-е сутки инкубирования. В опыте отмечалось незначительное сглаживание митохондриальных крист, в контроле митохондрии приобретали округлую форму, в набухших митохондриях выявлялось частичное, а иногда и полное разрушение крист; кроме этого, появилась картина паренхиматозной дегенерации и необратимости нарушения клеточных процессов, что проявлялось осаждением клеточных белков в матриксе цитоплазмы эндотелиальных клеток (рис. 1, д, е).

При сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в контрольной группе к 24-му дню были выявлены значительный полиморфизм, то есть наличие клеток с различными диагональными размерами и различной площадью, единичные клетки ги-

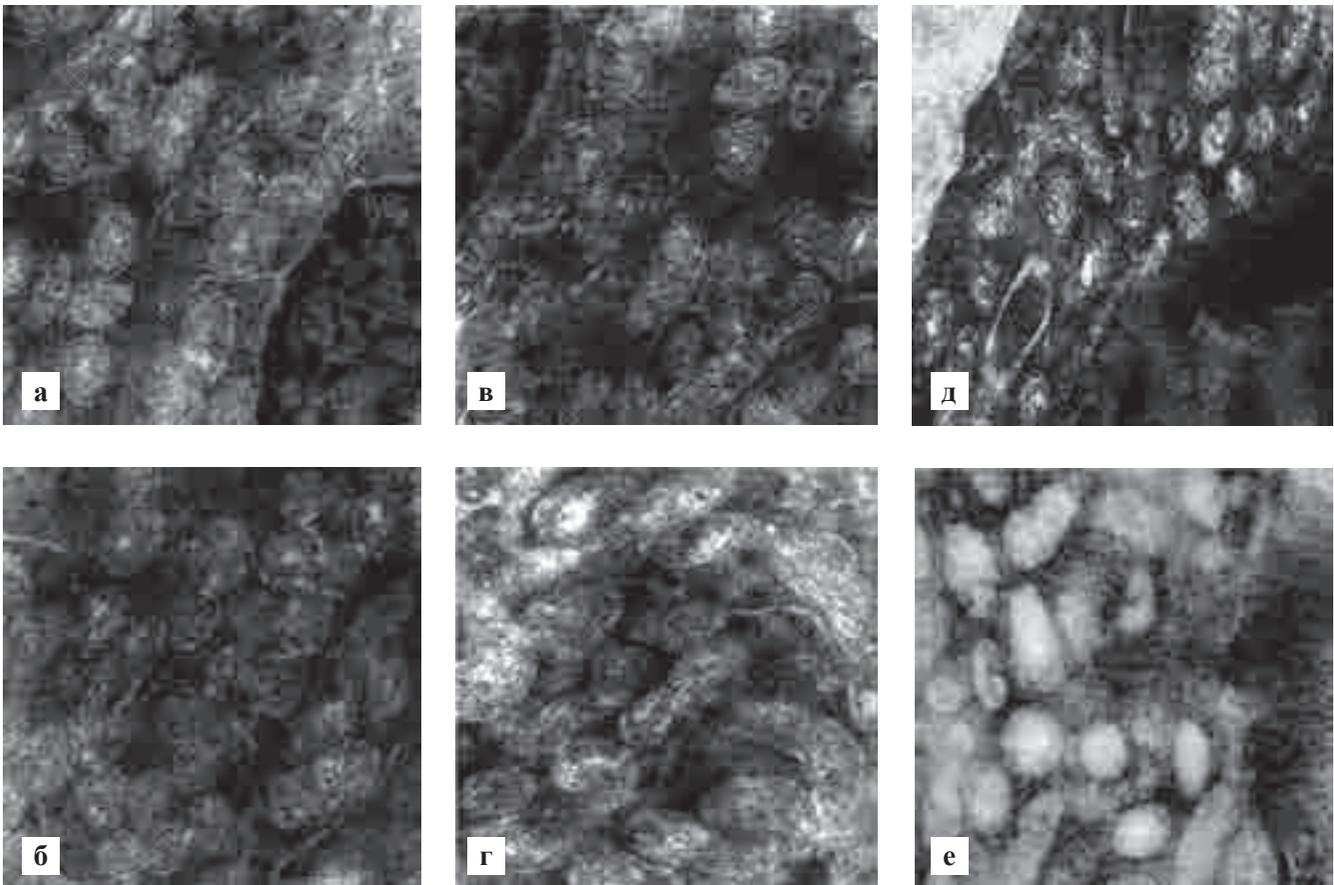


Рис. 1. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц из опытной (а, в, д) и контрольной (б, г, е) групп, культивированных в нормотермических условиях ( $t = +35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение различных сроков,  $\times 20\ 000$ : а, б – 8-е сутки культивирования, ультраструктурных отличий между опытной и контрольной группой не выявлено; в, г – 16-е сутки, в опыте изменений не выявлено, в контроле отчетность митохондриальных мембран, вымытый митохондриальный матрикс, сглаженность митохондриальных крист; д, е – 24-е сутки, в опыте сглаживание митохондриальных крист, в контроле в набухших митохондриях выявляется частичное, а иногда и полное разрушение крист, картина паренхиматозной дегенерации

гантского размера (рис. 2, в). В опытной группе эндотелиальные клетки сохранили мономорфизм и гексагональность, даже в области складок роговицы (рис. 2, а). При максимально эффективном увеличении в контрольной группе отмечено уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, обусловленное деструкцией билипидного слоя мембран (рис. 2, г), что не наблюдалось в опытной группе (рис. 2, б).

Анализ изменений плотности эндотелиальных клеток (ПЭК) показал, что достоверная разница между контрольной и опытной группами появляется на 16-е сутки культивирования: в опытной группе снижение ПЭК достигает 4,8%, тогда как в контрольной группе – 6,3% при максимально допустимых значениях до 5%. Через 24 дня органного культивирования анализ ПЭК показал, что потеря ЭК в опытной группе составила 6,1%, в контрольной – 9,7%, то есть и в опытной, и в контрольной группах превысила допустимые значения.

Площадь ЭК через 16 суток культивирования в опытной группе увеличилась на 0,92%, а в кон-

троле – на 2,57%; а к 24-м суткам культивирования площадь эндотелиальных клеток в опыте увеличилась на 3,3%, в контроле – на 4,6%. Процент гексагональных клеток на 16-е сутки культивирования в опыте уменьшился на 5,54%, а в контроле – на 22,27%. К 24-м суткам культивирования этот показатель составил 12,68 и 33,03% соответственно, т. е. в опыте уменьшился всего на 12%, в контроле – почти в 3 раза, то есть на 33%. Оценка результатов изменения ПЭК и анатомического строения ЭК в процессе культивирования позволяет прийти к заключению, что гомологичные клеточные пептиды роговицы увеличивают сроки культивирования до 16 суток.

### Гипотермическая консервация роговицы

При трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) на 3-и сутки гипотермической консервации не было выявлено существенной разницы в ультраструктурной архитектонике эндотелиальных клеток опытной и контрольной групп (рис. 3, а, б). Но

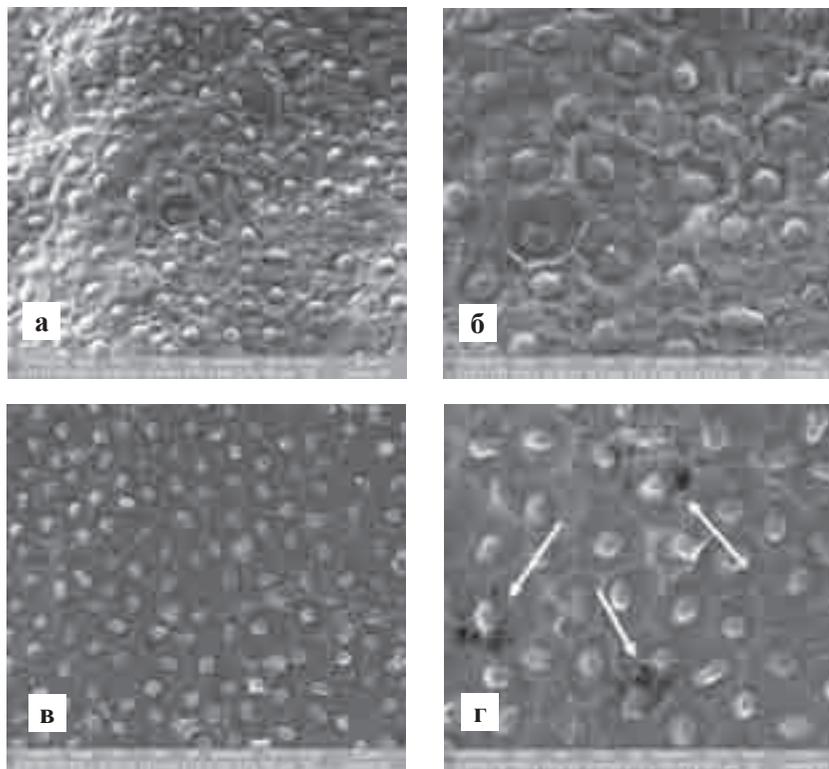


Рис. 2. СЭМ эндотелиального пласта роговиц в опытной (а, б) и в контрольной (в, г) группах, культивированных в нормотермических условиях при  $t = +35\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 24 суток: а, б –  $\times 800$ , в контроле – значительный полиморфизм и полимегетизм, в опыте эндотелиальные клетки сохранили мономорфизм и гексагональность; б, г –  $\times 1600$ , в опыте клетки без изменений электронно-оптической плотности, в контроле – уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, выраженная деструкция липидного бислоя мембран

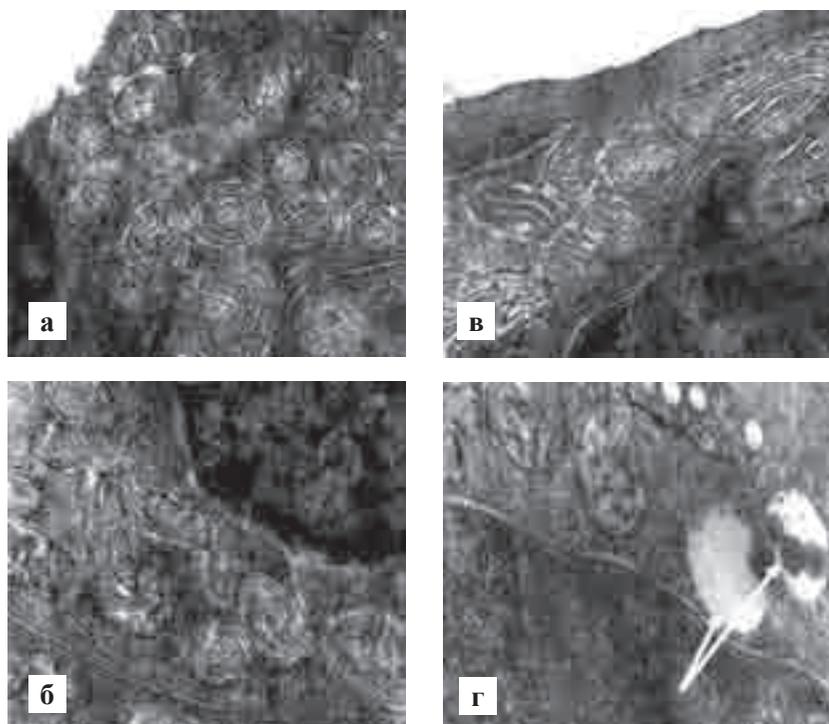


Рис. 3. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц опытной (а, в) и контрольной (б, г) групп после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) на разных сроках,  $\times 20\text{ }000$ : а, б – 3-и сутки консервации, ультраструктурных отличий между опытом и контролем не выявлено; в, г – 6-е сутки консервации, в опыте без изменения, в контроле в эндотелиальных клетках наряду с ультраструктурно сохранными органеллами присутствуют митохондрии с прозрачным матриксом, кристы которых либо отсутствуют, либо фрагментированы

на 6-е сутки консервации в эндотелиальных клетках контрольной группы наряду с ультраструктурно сохранными органеллами обнаруживается присутствие митохондрий с совершенно прозрачным матриксом, кристы которых либо отсутствовали либо были фрагментированы (рис. 3, г). На 9-е сутки консервации в эндотелиальных клетках роговиц опытной группы митохондрии приобретали округлую форму, отмечался начинающийся отек митохондриальных мембран, кристы митохондрий были сохранены (рис. 4, а, б), в то время как в контроле выявлены грубые ультраструктурные изменения клеток – цитоплазма фрагментирована, цитоплазматический матрикс просветлен, в нем видны многочисленные пузырьки различного размера и практически полное отсутствие сохранных органелл, что является явным признаком их аутолиза (рис. 4, в, г).

При сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на 9-е сутки в опыте отмечалось появление гигантских клеток, но клетки сохранили гекса- и пентагональность (рис. 5, а, б). В контроле выявлено выраженное разрушение межклеточных контактов и уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, свидетельствующих о деструкции цитоскелета и липидного бислоя мембран, чего не наблюдалось в опытной группе (рис. 5, в, г).

Было проведено дополнительное электронно-микроскопическое исследование роговиц опытной

и контрольной групп на 12-е сутки консервации. И в опытной, и в контрольной группах были выявлены грубые ультраструктурные повреждения пласта эндотелия.

За 9-е сутки гипотермической консервации потеря ЭК в опытной группе составила 4,1%, в контрольной – 7,2%, то есть снижение ПЭК в опытной группе не превышало предельно допустимых значений.

Площадь клеток в опыте увеличилась на 1,8%, в контроле на 2,9%, процент гексагональных клеток к 9-м суткам в опыте снизился всего на 6,86%, а в контроле – на 28%, свидетельствуя о значительно лучшей сохранности клеток в опытной группе к 9-м суткам консервации роговицы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование показало, что включение регуляторных клеточных пептидов в среды для органного нормотермического культивирования и гипотермической консервации донорских роговиц повышает протективные свойства сред, используемых для пролонгированного сохранения изолированных роговиц, повышает их жизнеспособность и увеличивает допустимые сроки их хранения. Об этом свидетельствуют более длительное сохранение ультраструктуры ми-

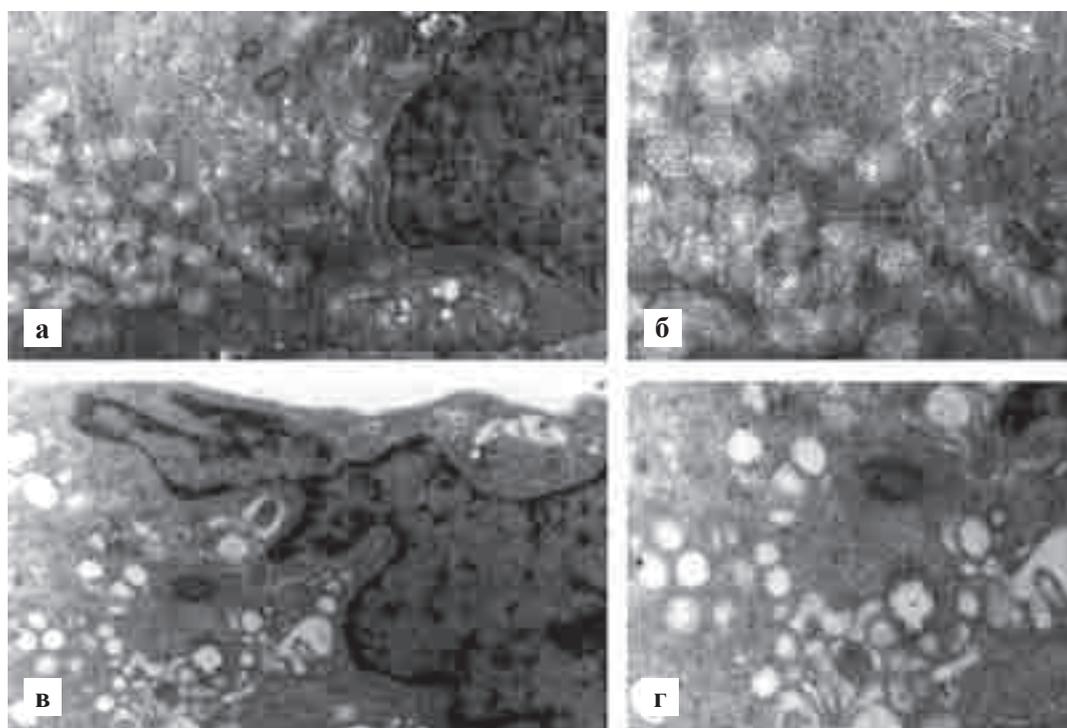


Рис. 4. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц в опытной (а, б) и контрольной (в, г) группах после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение 9 суток: а, б – начальный отек митохондриальных мембран, митохондрии округлой формы, кристы митохондрий сохранены, а –  $\times 10\,000$ , б –  $\times 20\,000$ ; в, г – грубые ультраструктурные изменения, цитоплазма фрагментирована, цитоплазматический матрикс просветлен, в нем видны многочисленные пузырьки различного размера, практически полное отсутствие сохранных органелл, в –  $\times 10\,000$ , г –  $\times 20\,000$

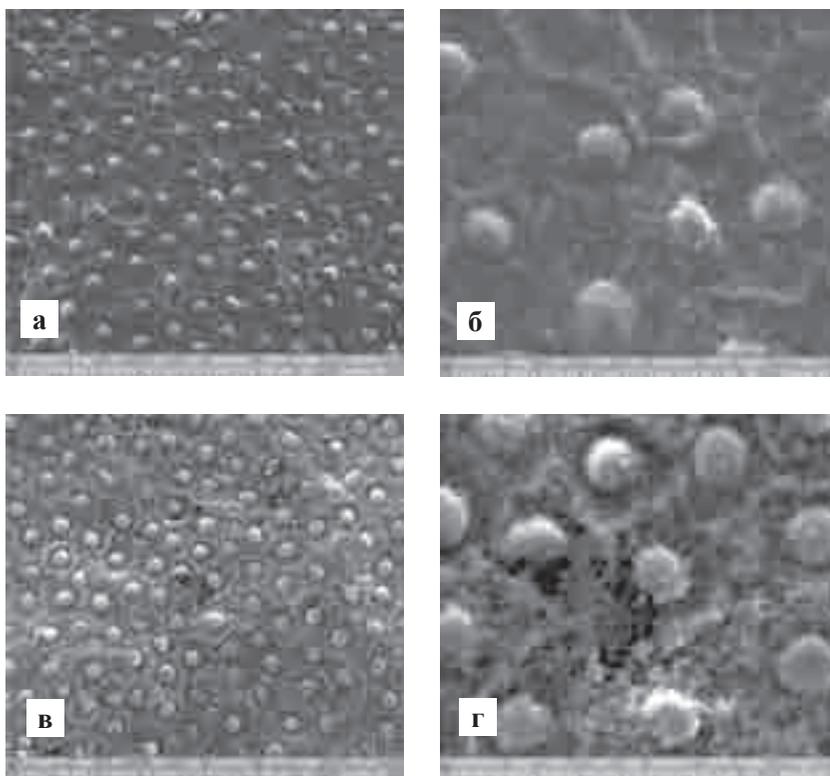


Рис. 5. СЭМ эндотелия донорских роговиц в опытной (а, б) и контрольной (в, г) группах после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение 9 суток: а, б – выражен полимегитизм, но клетки сохранили гекса- и пентагональность а –  $\times 800$ , б –  $\times 3000$ ; в, г – выраженное разрушение межклеточных контактов, уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, деструкция цитоскелета и липидного бислоя мембран, в –  $\times 800$ , г –  $\times 3000$ .

тохондрий ЭК, снижение темпа потери ЭК и более высокий процент сохранения гексагональных клеток в эндотелиальном монослое, что по данным ТЭМ и СЭМ обусловлено протективным действием на липопротеидный бислой клеточных мембран.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борзенко С.А. Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008. С. 309.
2. Вит В.В. Строение зрительной системы человека. Одесса: АстроПринт, 2003. 655 с.
3. Каспаров А.А., Ермаков Н.В., Раннопорт Ю.М. Эндотелий трансплантата донора после сквозной кератопластики // Вестн. офтальмол. 1990. Т. 106. № 5. С. 12–16.
4. Максимов И.Б. Применение препарата ретиналамин в офтальмологии: Пособие для врачей. СПб., 2005. 20 с.
5. Мороз З.И., Тахчиди Х.П., Калинин Ю.Ю. и др. Современные аспекты кератопластики // Федоровские чтения – 2004. «Новые технологии в лечении заболеваний роговицы». М., 2004. С. 280–288.
6. Ролик И.С. Пептидотерапия: клиническое применение. М.: РегБиоМед, 2010. 448 с.
7. Ронкина Т.И. Закономерности возрастных изменений эндотелия роговицы человека в норме и патологии, возможности активации пролиферации эндотелия и их назначение в офтальмологии: Дис. ... д-ра мед. наук в форме науч. доклада. М., 1994. 48 с.
8. Федоров С.Н., Ронкина Т.И., Явешева Т.М. Эндотелий роговицы человека. М.: МНТК «Микрохирургия глаза», 1993. 126 с.
9. Хавинсон В.Х., Трофимова С.В. Пептидные биорегуляторы в офтальмологии // СПб., 2003. 44 с.
10. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Курпатовский В.И. Фармакологическая защита трансплантата. М.: Медицина, 1983. 232 с.
11. Heine H. Wissenschaftliche Grundlagen der Organtherapie // Tierärztliche Umschau. 1996.51. P. 71–73.
12. Hsu J.K.W., Cavanagh H.D., Jester J.V. et al. Changes in corneal endothelial apical functional protein organization after corneal cold storage // Cornea. 1999. Vol. 18. № 6. P. 712–720.
13. Hwang D.G. Proliferative Capacity of the Corneal Endothelium // V World Cornea Congress. Washington, DC, 2005. P. 16.
14. Krachmer J.H., Mannis M.J., Holland E.J. Cornea. Fundamentals, Diagnosis and Management: 2<sup>nd</sup> Edition. Elsevier-Mosby, 2005. Vol. 1. 1409 p.
15. Melles G.R., Eggink F., Lander F. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty // Cornea. 1998. № 17. P. 618–626.

16. *Tripathi B.J., Kwait P.S., Tripathi R.C.* Corneal growth factors: a new generation of ophthalmic pharmaceuticals // *Cornea*. 1992. Vol. 9. P. 2–9.
17. *Vincent P. T. Hoppenreijns, Elisabeth Pels, Gijs F.J. M. Vrensen and W. Frits Treffers.* Basic fibroblast growth factor stimulates corneal endothelial cell growth and endothelial wound healing of human corneas // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994. Vol. 35. № 3. P. 931–944.
18. *Xin Gu, EunDuck P. Kay.* Distribution and Putative Roles of Fibroblast Growth Factor-2 Isoforms in Corneal Endothelial Modulation // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998. Vol. 39. № 12. P. 2252–2258.

### УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

**Подписной индекс** нашего издания в каталоге «Газеты и журналы» – 80248

Ф. СП-1

**ВЕСТНИК**  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ  
ОРГАНОВ

**80248**  
(индекс издания)

КОЛИЧЕСТВО  
КОМПЛЕКТОВ

на 2012 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----

Куда \_\_\_\_\_  
(почтовый индекс) \_\_\_\_\_ (адрес)

Кому \_\_\_\_\_  
(фамилия, инициалы)

---

Ф. СП-1

**ВЕСТНИК**  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ  
ОРГАНОВ

**ДОСТАВочная КАРТОЧКА**

на журнал **80248**  
(индекс издания)

на 2012 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----

Куда \_\_\_\_\_  
(почтовый индекс) \_\_\_\_\_ (адрес)

Кому \_\_\_\_\_  
(фамилия, инициалы)

85