

УДК 615.849:575.191: 616.831–006.484

ОЛЕКСАНДР ЯКОВИЧ ГЛАВАЦЬКИЙ<sup>1</sup>, ОКСАНА ВОЛОДИМИРІВНА ЗЕМСКОВА<sup>1</sup>,  
ГЕННАДІЙ ВЛАДИСЛАВОВИЧ ХМЕЛЬНИЦЬКИЙ<sup>1</sup>, ІРИНА МИКОЛАЇВНА ШУБА<sup>1</sup>,  
ДЕНИС АРКАДІЙОВИЧ КУРІННИЙ<sup>2</sup>, ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА ДЕМЧЕНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

<sup>2</sup> ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ

## ОЦІНКА ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РАДІОЧУТЛИВОСТІ У НЕЙРООНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ МЕТОДОМ КОМЕТНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ

**Мета роботи.** Оцінити можливість застосування методу електрофорезу окремих клітин (Comet assay) для визначення індивідуальної відповіді на іонізуюче випромінювання у нейроонкологічних хворих.

**Матеріали і методи.** Культивування лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) 16 осіб (12 хворих на гліобластому та 4 умовно здорових волонтерів); опромінення культур лімфоцитів *in vitro* на G0 стадії мітотичного циклу в дозі 1,0 Гр; аналіз 19200 клітин за допомогою Comet assay.

**Результати.** У ході роботи проаналізовано можливість застосування технології кометного електрофорезу для визначення індивідуальної радіочутливості у нейроонкологічних хворих. Було оцінено індивідуальну відповідь на іонізуюче випромінювання за такими параметрами: частота клітин, що зупинились у поділі на S-стадії клітинного циклу; рівень пошкодження ДНК (відносний рівень одно- та дволанцюгових розривів ДНК) за основним показником Tail moment (ТМ). При аналізі інтактних культур лімфоцитів частота клітин з високим рівнем пошкодження ДНК була статистично значуще вище ( $p < 0,05$ ) у нейроонкологічних хворих, ніж в умовно здорових осіб. У нейроонкологічних хворих радіаційне навантаження викликало різноспрямовану відповідь щодо активності checkpoint контролю на S-стадії клітинного циклу. В усіх спостереженнях під впливом опромінення *in vitro* було зафіксовано зміну частоти клітин із високим рівнем пошкодження ДНК.

**Висновки.** Аналіз результатів дослідження показав, що метод електрофорезу окремих клітин дозволяє визначити особливості індивідуальної відповіді на іонізуюче випромінювання у нейроонкологічних хворих. Такий підхід є доцільним в оцінці індивідуальної радіочутливості та створює підґрунтя для впровадження персоналізації променевого лікування в нейроонкології. Подальша робота над проблемою індивідуальної радіочутливості зі збільшенням когорти пацієнтів та розробкою оптимальних критеріїв відповіді на радіаційне навантаження сьогодні є вкрай необхідною.

**Ключові слова:** індивідуальна радіочутливість, гліобластома, культура лімфоцитів периферичної крові людини, апоптоз, електрофорез окремих клітин (Comet assay).

Погляд на терапію онкологічних захворювань за останні роки зазнав кардинальних змін. Основною рушійною силою досягнення прогресу в лікуванні онкологічних хворих сьогодні є персоналізована медицина, що ґрунтується на виборі оптимальної терапії відповідно до індивідуальних характеристик хворого. Променева терапія (ПТ) є одним із трьох основних видів лікування в онкології поряд із хірургією та хіміотерапією (ХТ). При цьому більше половини онкологічних хворих хоча б одного разу лікуються ПТ, 5–10 % опромінених хворих мають важкі побічні реакції, навіть за умови опромінення на сучасному високотехнологічному обладнанні [1,2]. Тому одним із головних сучасних викликів радіобіології є передбачення

радіочутливості нормальних тканин хворого та радіорезистентності пухлини, аби створити персоналізоване прецизійне лікування. Разом з тим потенціал прецизійної медицини для покращення результатів ПТ практично тільки почав використовуватися [3,4]. Під впливом іонізуючого випромінювання у клітині запускається вкрай складний каскад різноспрямованих реакцій, що включають зміни імунної регуляції, активацію запальних цитокінів, радіоліз, протеомні та геномні порушення, а також епігенетичні зміни регуляції експресії генів. Універсальним наслідком радіаційного навантаження вважається геномна нестабільність, що спричинюється одно- та дволанцюговими порушеннями ДНК. На сьогодні одним із найбільш перспективних методів оцінки пошкодження ДНК є метод електрофорезу окремих клітин (Comet assay) [5–7].

© О. Я. Главацький, О. В. Земскова, Г. В. Хмельницький,  
І. М. Шуба, Д. А. Курінний, О. М. Демченко, 2019

Поширеність пухлин центральної нервової системи (ЦНС) у світі за останні 25 років достовірно зростає. Проте системний аналіз даних демонструє, що за цей період рівень нейроонкологічної смертності на глобальному рівні суттєво не змінився [8]. Гліобластома (ГБ) є найбільш поширеною злоякісною пухлиною ЦНС у дорослих, що характеризується вкрай агресивним перебігом, у переважній більшості випадків із фатальним прогнозом. Навіть за умови застосування сучасних методів комплексного лікування медіана виживаності хворих на ГБ не перевищує 15–18 місяців після встановлення діагнозу, менш ніж 5 % хворих доживають 5 років [9]. Тому пошук шляхів підвищення ефективності комплексного лікування нейроонкологічних хворих, що ґрунтуються на персоналізованому підході, є вкрай актуальною проблемою. Незважаючи на те, що в останні роки зростає кількість хворих із злоякісними гліомами, які були опромінені на сучасному високо-технологічному обладнанні (стереотаксична конформна радіотерапія/радіохірургія) та досить ґрунтовно вивчаються різні режими опромінення (насамперед, можливість гіпофракціонування), існує обмежена кількість робіт щодо індивідуалізації ПТ у нейроонкології.

Метою нашої роботи було оцінити можливість застосування методу електрофорезу окремих клітин (Comet assay) для визначення індивідуальної відповіді на іонізуюче випромінювання.

## МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі для оцінки індивідуальної відповіді нейроонкологічних хворих на дію іонізуючої радіації було застосовано метод електрофорезу окремих клітин у нейтральних умовах [7,10]. Ця модифікація кометного електрофорезу дозволяє одночасно оцінювати відносний рівень одно- та дволанцюгових розривів ДНК, визначати кількість клітин, у яких у результаті наявності значних пошкоджень генома відбувається зупинка клітинного циклу на S стадії, а також частоту клітин, які знаходяться у стані апоптозу [11].

У дослідженні використовували культури лімфоцитів периферичної крові 16 осіб (12 хворих на ГБ та 4 умовно здорових волонтерів). Серед досліджених хворих було 4 жінки та 8 чоловіків, середній вік склав 54,5 року (27–68). В усіх випадках діагноз ГБ (IV grade WHO) було патоморфологічно верифіковано після хірургічного видалення пухлини (6 випадків — тотальне видалення, 4 — субтотальне видалення, 2 — стереотаксична біопсія пухлини). У 8 з 12 випадків було проведено імуногістохімічне дослідження із визначенням наявності мутації ізоцитратдегідрогенази (IDH 1/2) та MGMT-статусу в пухлині. Відповідно всі ці 8 хворих не мали мутації IDH 1/2 (IDH1/2 wildtype ГБ), що на сьогодні розцінюється як прогностично несприятлива ознака та асоціюється із більш агресивним типом пухлини і вірогідно більш низькою виживаністю хворих у порівнянні із IDH-мутуваними ГБ. При визначенні MGMT-статусу в 6 із 8 випадків у пухлині виявлено позитивну експресію та відсутність метилювання гена MGMT, що пов'язують із резистентністю до ХТ алкілюючим препаратом темозоломід.

Хірургічне лікування хворих проводилось у ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», ад'ювантне лікування (ХТ, ПТ) хворим не проводилось.

Культури периферичної крові лімфоцитів, одержані від 4-х умовно здорових волонтерів (2 жінки, 2 чоловіки), середній вік — 43 роки (35–51), які заперечували свідомий контакт зі знайомими чи потенційними мутагенами, вели здоровий спосіб життя, були використані як контроль.

Дослідження проводились згідно з етичними нормами, прийнятими українським законодавством. Усі особи були залучені до дослідження за умови надання поінформованої згоди.

Культивування лімфоцитів проводили протягом 48 год. за модифікованим нами стандартним мікротодом [12]. Частину культур опромінювали  $\gamma$ -квантами (випромінювач IBL-237C, потужність 2,34 Гр/хв) у дозі 1,0 Гр на 0 годині культивування. Неопромінені культури слугували контролем.

Для оцінки відносного рівня пошкодження ДНК використовували метод електрофорезу окремих клітин у нейтральних умовах. Приготування слайдів, лізис клітин та проведення нейтрального кометного електрофорезу проводили за загальноприйнятою методикою [11]. Після електрофорезу препарати забарвлювали DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) у концентрації 2 мг/мл та аналізували під люмінесцентним мікроскопом з приєднаною фотокамерою Canon D1000. Зображення обробляли з використанням програми ImageJ (imagej.nih.gov), плагіну Open Comet. Як параметр для визначення відносного рівня пошкодження ДНК використовували показник «Tail Moment» (TM) [7], який вираховується як добуток довжини «хвоста комети» і фракції тотальної ДНК у «хвості комети». TM враховує як частки найменшого розміру виявленої мігруючої ДНК (що відображено в довжині «хвоста комети»), так і кількість релаксованих / пошкоджених великих фрагментів ДНК (інтенсивність виходу ДНК у хвостову частину).

Статистичну обробку даних проводили за загальноприйнятими методами [13].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При порівнянні значень TM в інтактних культурах встановлено, що показники частоти клітин із високим рівнем пошкоджень ДНК у культурах лімфоцитів нейроонкологічних хворих перевищує середньогрупові показники умовно здорових волонтерів ( $7,61 \pm 0,43$  та  $4,07 \pm 0,6$  відповідно,  $p < 0,05$ ).

Для більш детального аналізу було проведено дослідження частотного розподілу окремих клітин у залежності від рівня міграції ДНК в агарозний гель. Усі «комети» були розподілені за значеннями TM на 17 груп (TM від 0 до  $16 <$ ) та за значенням ДНК у хвостовій частині на 15 груп (відсоток ДНК від 0 до  $30 <$ ). Якщо TM (відсоток ДНК) дорівнював граничному значенню, «комету» відносили до наступної групи. На рисунках представлені дані розподілу за TM (рис. 1, рис. 2).

ТМ-окреме культивування

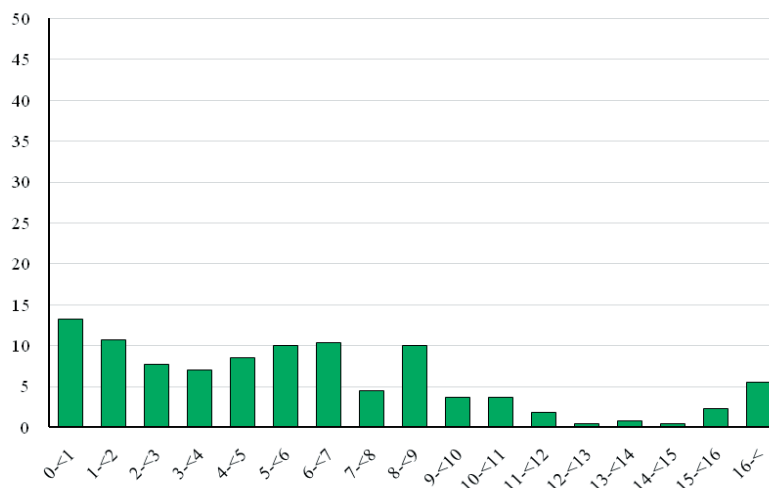


Рис. 1. Частотний розподіл «комет» за ТМ ЛПК умовно здорових осіб

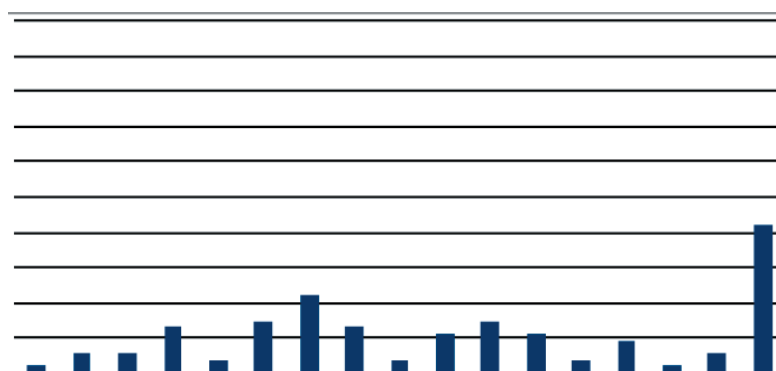


Рис. 2. Частотний розподіл «комет» за ТМ ЛПК у обстежених нейроонкологічних хворих

Після проведення культивування в культурах лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) хворих на ГБ встановлено статистично значуще ( $p < 0,001$ ) зростання в порівнянні з показниками групи умовно здорових осіб, частоти «комет» з ТМ 16< (остання група), що відповідає клітинам з високим рівнем пошкоджень ДНК. Таким чином, встановлено підвищений загальний рівень геномної нестабільності у неопромінених культурах лімфоцитів хворих на ГБ.

Дія проваючого опромінення *in vitro* (1,0 Гр) у хворих на гліобластому викликала два варіанти відповіді: у 9 хворих було зафіксовано зростання частоти клітин з високим рівнем пошкоджень ДНК у порівнянні з відповідними показниками до опромінення (група 1), у 3 хворих спостерігалось зниження частоти клітин з високим рівнем пошкоджень ДНК (група 2). Дані представлені на рисунках 3 та 4.

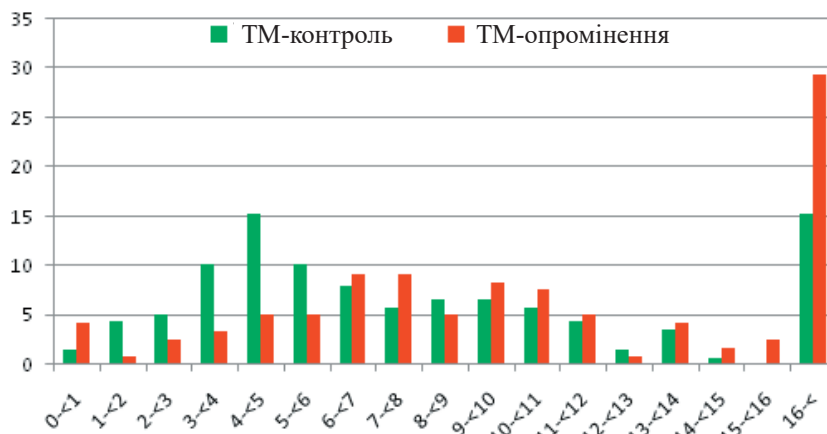


Рис. 3. Частотний розподіл «комет» за ТМ ЛПК у хворих на ГБ (група 1):

ТМ-контроль — показник ТМ в інтактній культурі ЛПК; ТМ-опромінення — показник ТМ в опроміненій *in vitro* в дозі 1,0 Гр культури ЛПК

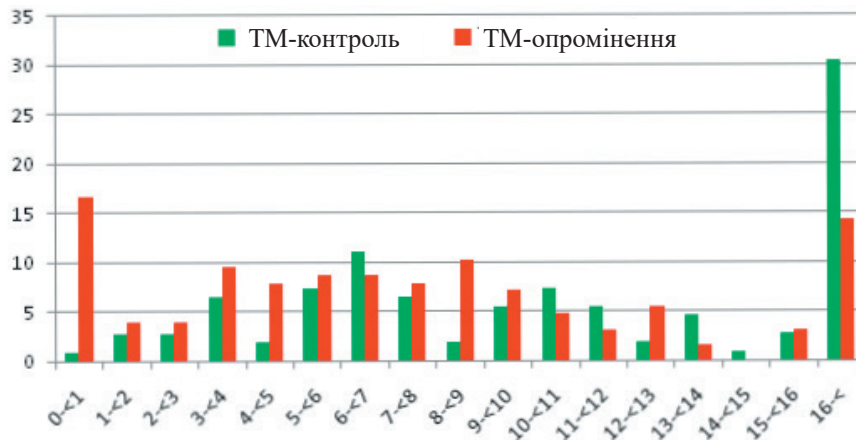


Рис. 4. Частотний розподіл «комет» за TM ЛПК у хворих на ГБ (група 2):

TM-контроль — показник TM в інтактній культурі ЛПК; TM-опромінення — показник TM в опроміненій *in vitro* в дозі 1,0 Гр культури ЛПК

Оскільки іонізуюче випромінювання в дозі 1,0 Гр викликає близько 1000 одноланцюгових та 40 дволанцюгових розривів ДНК [14], виникає питання: з чим може бути пов'язане падіння рівня клітин з високим ступенем пошкодження генома після опромінення, що було зафіксовано у частини хворих на ГБ?

Результати частотного розподілу вказують на значне зростання рівня клітин з TM від 0 до 1 у хворих групи 2 після опромінення. Оскільки відомо, що при нейтральному варіанті «кометного» електрофорезу у клітин, які знаходяться в S фазі, спостерігається значне зниження виходу ДНК [15], то, вірогідно, така ситуація свідчить про наявність у культурі лімфоцитів значної кількості пошкоджених клітин, у яких спрацював checkpoint на S фазі клітинного циклу. Саме цим можна пояснити значне зниження середнього рівня TM у культурах клітин групи 2 хворих на ГБ.

Слід зазначити, що в неопромінених культурах хворих групи 2 частота клітин із високим рівнем пошкодження (TM<16) статистично значуще ( $p < 0,001$ ) переважала відповідний показник групи 1. Отже в інтактних культурах пацієнтів групи 2

клітини з високим ступенем пошкодження змогли пройти checkpoint-контроль. Можна зробити висновок, що вплив іонізуючого випромінювання привів до активації систем контролю в культурах ЛПК пацієнтів цієї групи. Отриманий результат може вказувати на низький рівень індивідуальної чутливості до опромінення, що потребує подальшої перевірки.

## ВИСНОВКИ

Проведене дослідження індивідуальної відповіді на радіаційне навантаження за допомогою кометного електрофорезу окремих клітин (Comet assay) продемонструвало широкі можливості, які відкриває дана методика для контролю геномної нестабільності в лімфоцитах периферичної крові хворих на злоякісні гліоми.

Зафіксовано різноспрямовану реакцію щодо зміни рівня клітин з високим рівнем пошкодження ДНК та активності checkpoint контролю на S-стадії клітинного циклу, що дозволяє використовувати ці показники для більш детальної оцінки індивідуальної радіочутливості.

Вказаний підхід надає можливість персоналізації променевої терапії у нейроонкологічних хворих.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Radiation biology and oncology in the genomic era* / S. L. Kerns, K. H. Chuang, W. Hall et al. // *The British journal of radiology*. — 2018. — 91(1091), 20170949. doi:10.1259/bjr.20170949
2. *Evaluation of Different Biomarkers to Predict Individual Radiosensitivity in an Inter-Laboratory Comparison—Lessons for Future Studies* / B. Greve, T. Bölling, S. Amler et al. // *PLOS ONE*. — 2012. — 7(10): e47185. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047185>
3. *Ashley E. A. The Precision Medicine Initiative: A New National Effort* / E. A. Ashley // *JAMA*. — 2015. — Vol. 313, N 21. — P. 2119–2120. doi: 10.1001/jama.2015.3595.
4. *Schork N. Personalized medicine: Time for one-person trials* / Schork N. // *Nature* 520, 609–611 (2015) doi:10.1038/520609a
5. *Prise Precision Radiotherapy and Radiation Risk Assessment: How Do We Overcome Radiogenomic Diversity?* / Hisanori Fukunaga, Akinari Yokoya, Yasuyuki Taki et al. // *Tohoku J Exp Med*. — 2019 Apr. — Vol. 247, N 4. — P. 223–235. doi: 10.1620/tjem.247.223
6. *DNA damage assessment and potential applications in laboratory diagnostics and precision medicine* / Reddig, Annika, Claudia E. Rube et al. // *Journal of Laboratory and Precision Medicine [Online]*. — 2018. — Vol 3 (4). doi: 10.21037/jlpm.2018.03.06
7. *Editors A. Azqueta 30 years of the Comet Assay: an overview with some new insights* / Editors A. Azqueta, S. Langie, A. Collins. — *Frontiers*, 2007. — 560 p.

8. *GBD 2016 Brain and Other CNS Cancer Collaborators*. Global, regional, and national burden of brain and other CNS cancer, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study // 2016. *LancetNeurol*. 2019; 18(4): 376–93. doi:10.1016/S1474-4422(18)30468-X.

9. *Wick W*. Treatment of glioblastoma in adults / W. Wick, M. Osswald, A. Wick, F. Winkler // *Ther Adv NeurolDisord*. — 2018, Jul. — Vol. 25;11:1756286418790452. doi: 10.1177/1756286418790452. PubMed PMID: 30083233; PubMed Central PMCID: PMC6071154.

10. *Olive P. L*. The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells / P. L. Olive, J. P. Banáth // *Nature protocols*. — 2006. — Vol. 1, N 1. — P. 23–29. doi:10.1038/nprot.2006.5.

11. *Kurinyi D*. Astaxanthin as a modifier of genome instability after  $\gamma$ -radiation. *Progress in Carotenoid Research* / D. Kurinyi, S. Rushkovsky, O. Demchenko, M. Pilinska ; edited by: L. Zepka, E. Jacob-Lopes, V. Vera De Rosso. — London : InTechOpen, 2018. — P. 121–138.

12. *Kurinyi D. A*. Peculiarities of modification by astaxanthin of radiation-induced damages in the genome of human blood lymphocytes exposed in vitro on different stages of the mitotic cycle / D. A. Kurinyi, S. R. Rushkovsky, O. M. Demchenko, M. A. Pilinska // *Cytol Genet*. — 2018. — Vol. 52, N 1. — P. 40–45.

13. *Rosner B*. *Fundamentals of Biostatistics*. — Eighth Edition / B. Rosner. — Cengage Learning, 2015. — 962 p.

14. *Ahnström G*. Measurement of strand breaks by alkaline denaturation and hydroxyapatite chromatography // *DNA Repair. A Laboratory Manual of Research Procedures* / G. Ahnström, K. Erixon (E. C. Friedberg and P. C. Hanawalt P. C, Eds.). — Marcel Dekker : New York, 1981. — P. 403–418.

15. *Olive P. L*. Heterogeneity in DNA damage using the comet assay / P. L. Olive, R. E. Durand // *Cytometry*. — 2005. — Vol. 66. — P. 1–8.

Стаття надійшла до редакції 27.09.2019.

А. Я. ГЛАВАЦКИЙ<sup>1</sup>, О. В. ЗЕМСКОВА<sup>1</sup>, Г. В. ХМЕЛЬНИЦКИЙ<sup>1</sup>, И. Н. ШУБА<sup>1</sup>, Д. А. КУРИННЫЙ<sup>2</sup>,  
Е. Н. ДЕМЧЕНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова НАМН Украины», Киев

<sup>2</sup> ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», Киев

## ОЦЕНКА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ МЕТОДОМ КОМЕТНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

**Цель работы.** Оценить возможность применения метода электрофореза отдельных клеток (Comet assay) для определения индивидуального ответа на ионизирующее излучение у нейроонкологических больных.

**Материалы и методы.** Культивирование лимфоцитов периферической крови (ЛПК) 16-ти человек (двенадцати больных с глиобластомой и 4-х условно здоровых волонтера) облучение культур лимфоцитов in vitro на G0 стадии митотического цикла в дозе 1,0 Гр ; анализ 19200 клеток с помощью Comet assay.

**Результаты.** В ходе работы проанализирована возможность применения технологии кометного электрофореза для определения индивидуальной радиочувствительности у нейроонкологических больных. Проведена оценка индивидуального ответа на действие ионизирующего излучения по следующим параметрам: частота клеток, которые остановились в делении на S-стадии клеточного цикла; уровень повреждения ДНК (относительный уровень одно- и двуцепочных разрывов ДНК) по показателю Tail moment (ТМ). При анализе интактных культур лимфоцитов частота клеток с высоким уровнем повреждений ДНК была статистически значимо выше ( $p < 0,05$ ) у нейроонкологических больных, чем у условно здоровых лиц. У нейроонкологических больных радиационная нагрузка вызвала разнонаправленный ответ по показателю активности checkpoint контроля на S-стадии клеточного цикла. Во всех наблюдениях под влиянием облучения in vitro было зафиксировано изменение частоты клеток с высоким уровнем повреждений ДНК.

**Выводы.** Анализ результатов исследования показал, что метод электрофореза отдельных клеток позволяет оценить особенности индивидуального ответа на ионизирующее излучение нейроонкологических больных. Такой подход целесообразен при оценке индивидуальной радиочувствительности и создает почву для внедрения персонализации лучевого лечения в нейроонкологии. Дальнейшая работа над проблемой индивидуальной радиочувствительности с увеличением когорты пациентов и разработкой оптимальных критериев ответа на радиационную нагрузку является сегодня крайне необходимой.

**Ключевые слова:** индивидуальная радиочувствительность, глиобластома, культура лимфоцитов периферической крови человека, апоптоз, электрофорез отдельных клеток (Comet assay).

O. GLAVATSKYI<sup>1</sup>, O. ZEMSKOVA<sup>1</sup>, H. KHMELNYTSKYI<sup>1</sup>, I. SHUBA<sup>1</sup>, D. KURINNYI<sup>2</sup>, O. DEMCHENKO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SI «Institute of Neurosurgery named after acad. A. P. Romodanov of NAMS of Ukraine», Kyiv

<sup>2</sup> SI «National Research Center for Radiation Medicine of the NAMS of Ukraine», Kyiv

### EVALUATION OF INDIVIDUAL RADIATION SENSITIVITY OF NEURO-ONCOLOGICAL PATIENTS BY COMET ASSAY

**Purpose.** To assess the feasibility of using Comet assay for the evaluation of individual radiosensitivity in patients with glioblastoma.

**Materials and methods.** The blood lymphocytes of 16 people (twelve patients with glioblastoma and 4 healthy volunteers) was cultivated. The culture of human peripheral blood lymphocytes was irradiated in vitro at G0 phase of mitotic cycle in dose 1.0 Gy. The 19200 cells were assessed for individual irradiation response using Comet assay.

**Outcomes.** The study showed the feasibility of using Comet assay for the evaluation of individual radiosensitivity in neuro oncological patients. Individual response to the ionizing radiation was evaluated according the following parameters: the frequency of cells that stopped dividing at the S phase of mitotic cycle; DNA damage rate (relative rate of single- and double- stranded DNA breaks) measured in Tail moment (TM). The frequency of cells with a high DNA damage rate was significantly higher ( $p < 0,05$ ) in non-irradiated lymphocyte cultures of neuro-oncological patients compared to volunteers. Different response to irradiation in terms of activity of checkpoint control at the S phase of mitotic cycle was established among neuro-oncological patients. The change in rate of the cells with high DNA damage after in vitro irradiation was noted in all cases.

**Conclusions.** Comet assay allows for assessment the features of individual response to irradiation in neuro-oncological patients. This approach is feasible in evaluation of individual radiationsensitivity and can be used in personification of radiotherapy in neuro-oncology. Further investigations with higher number of cases are needed for developing an optimal criteria of individual response to irradiation.

**Keywords:** individual radiationsensitivity, glioblastoma, culture of human peripheral blood lymphocytes, apoptosis, Comet assay.

#### Контактна інформація:

Земскова Оксана Володимирівна

канд. мед. наук, лікар з променевої терапії відділення радіонейрохірургії

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України»

вул. Платона Майбороди, 32, м. Київ, 04050, Україна

тел.: +38 (095) 575-05-75

E-mail: oxzemszkova@gmail.com