

УДК 616.411-006.441 : 612.063 : 616-08-059

Е.В. Баторов, Е.Я. Шевела, И.В. Крючкова, Д.С. Баранова, В.В. Сергеевичева, С.А. Сизикова,
Г.Ю. Ушакова, А.В. Гилевич, А.А. Останин, Е.Р. Черных

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМАМИ

НИИ клинической иммунологии СО РАМН (Новосибирск)

Проанализировано влияние ко-трансплантации костномозговых мезенхимальных стромальных клеток (МСК) на клинико-лабораторные показатели эффективности аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у больных злокачественными лимфомами. Ко-трансплантация МСК в средней дозе $0,178 \times 10^6/\text{кг}$ была проведена 74 больным лимфомами. Группу сравнения составили сопоставимые пациенты ($n = 83$) со стандартной аутологичной ТГСК. Использование относительно небольших количеств *ex vivo* генерированных МСК, вводимых после трансплантации ГСК, приводит к уменьшению длительности периодов критической нейтропении и тромбоцитопении. Пациенты с ко-трансплантацией МСК отличались более эффективным ранним восстановлением лимфоцитов. Не выявлено увеличения частоты инфекционных осложнений и проявлений нефро- и гепатотоксичности. Анализ 5-летней выживаемости больных не выявил значимых различий между группами больных со стандартной ТГСК и ко-трансплантацией МСК и ГСК по показателю общей выживаемости, однако продемонстрировал достоверное улучшение показателей выживаемости до рецидива/прогрессии заболевания в группе пациентов с ко-трансплантацией МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

CLINICAL EFFECTS OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN LYMPHOMA PATIENTS WITH AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

E.V. Batorov, E.Ya. Shevela, I.V. Kryuchkova, D.S. Baranova, V.V. Sergeevicheva,
S.A. Sizikova, G.Yu. Ushakova, A.V. Gilevich, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh

Research Institute of Clinical Immunology SD RAMS, Novosibirsk, Russia

The clinical and laboratory effects of bone-marrow derived mesenchymal stromal cells (MSC) in patients with malignant lymphomas following autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) have been investigated. Co-transplantation of MSC in average dose of $0,178 \times 10^6/\text{kg}$ was conducted in 74 patients with auto-HSCT. The control group included 83 patients eligible for standard HSCT. We revealed the decreasing of the period of neutropenia and thrombocytopenia when hematopoietic stem cells were co-transplanted with low doses *ex vivo* expanded autologous MSC. Patients with MSC co-transplantation were differed by more effective early lymphocyte recovery. At the same time MSC co-transplantation did not increase the incidence of infectious complications and cases of renal and hepatic toxicity. Patients with MSC co-transplantation did not differ from opposite group by 5-year overall survival, but were characterized by significantly better progression-free survival.

Key words: mesenchymal stromal cells, hematopoietic stem cells transplantation

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) относятся к классу соматических стволовых клеток и характеризуются способностью к самоподдержанию и дифференцировке в клетки тканей мезодермального и – при определенных условиях – экто- и эндодермального происхождения [4]. Благодаря своему дифференцировочному потенциалу, противовоспалительной, иммуномодулирующей, трофической активности, способности мигрировать в очаг поражения, а также низкой иммуногенности при сравнительно простом протоколе экспансии *in vitro* МСК являются привлекательным средством терапии многих заболеваний [14].

Основанием для использования МСК при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является их способность поддерживать и стимулировать гемопоэз посредством продукции факторов, стимулирующих гемопоэз и миграцию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), а также дифференцировки МСК в клетки костномозгового

микроокружения [2, 9]. Однако наличие иммуносупрессорной активности вызывает ряд опасений в плане возможных негативных эффектов МСК, включая снижение эффективности иммунорекогнитуции, увеличения частоты и /или тяжести инфекционных осложнений и ухудшение показателей общей и безрецидивной выживаемости [5, 10].

Ранее нами был разработан и внедрен в клинику метод ко-трансплантации МСК с целью улучшения приживления стволовых кроветворных клеток и ускорения восстановления гемопоэза при проведении ТГСК. В процессе апробации данного подхода на относительно небольшой выборке была показана хорошая переносимость ко-трансплантации МСК и сокращение продолжительности нейтро- и тромбоцитопении [7]. Целью настоящего исследования стало изучение влияния ко-трансплантации МСК на ряд клинико-лабораторных показателей, характеризующих эффективность ТГСК, включая эффективность восстановления кроветворения,

частоту развития/тяжесть инфекционных осложнений, купирование токсических эффектов ПХТ и показатели выживаемости после аутологичной ТГСК у больных злокачественными лимфомами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 157 больных, в том числе 89 мужчин и 68 женщин в возрасте от 7 до 62 лет (медиана 33 года), которым проводилась аутологичная ТГСК в отделении гематологии и трансплантации костного мозга Клиники иммунопатологии НИИ Клинической иммунологии СО РАМН в период с 2003 по 2012 гг. У 61 пациента диагностировалась неходжкинская лимфома (НХЛ), у 56 — лимфома Ходжкина (ЛХ) и у 40 больных — множественная миелома (ММ). У всех пациентов оценивали абсолютное количество лимфоцитов до мобилизации, в продукте сепарации, после ТГСК — на момент выхода из цитопении (лейкоциты $> 1 \times 10^9/\text{л}$) и при выписке. Забор крови и все иммунологические исследования проводились после получения письменного информированного согласия пациентов.

Мобилизацию ГСК у большинства больных проводили с использованием различных режимов химиотерапии с последующим введением препаратов гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ) 5 — 10 мкг/кг/день. Г-КСФ в режиме монотерапии (10 мкг/кг/день) применялся только у 13 больных. Процедуру афереза начинали по достижении концентрации 1×10^4 CD34⁺ клеток/мл периферической крови и продолжали до получения $\geq 2,0 \times 10^6$ CD34⁺ клеток/кг, используя сепараторы клеток крови AS TEC 204 (Fresenius) и Spectra LRS 07 (COBE).

Пациенты получали режимы кондиционирования: ВЕАМ (94 человека) и мелфалан 140 — 200 мг/м² (63 человека).

МСК генерировали из прилипающей фракции аспирата костного мозга согласно описанной технологии [13] и криоконсервировали в растворе человеческого альбумина («Микроген», Россия), содержащем 10% DMSO (Sigma-Aldrich). Размораживание клеток проводили непосредственно перед введением, двукратно отмывали, ресуспендировали в 20 мл физиологического раствора и вводили внутривенно сразу после трансплантации ГСК.

Общий анализ крови оценивали на автоматическом гематологическом анализаторе Nema-Screen 18 (Hospitex Diagnostics, Italy). Раннее восстановление лимфоцитов считалось наступившим, если выход из цитопении (лейкоциты $> 1 \times 10^9/\text{л}$) наступал не позднее 15 дня, а количество лимфоцитов в периферической крови при этом составляло $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и более.

Оценку биохимических показателей, включая концентрацию креатинина, АлАТ, АсАТ, проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Photometer 5010 (Riele, Germany) (до декабря 2008) и на автоматическом биохимическом анализаторе Labio-200 (Mindray, China).

Тяжесть инфекционных осложнений, степень цитопении и токсичности определяли в соответ-

ствии с рекомендациями ВОЗ и Международного противоракового союза.

Математическая обработка данных производилась при помощи параметрических и непараметрических методов с использованием программных пакетов для статистической обработки Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий между подгруппами больных использовались критерий χ^2 для дискретных переменных и критерий Вилкоксона — Манна — Уитни — для непрерывных переменных. Анализ выживаемости проведен по методу Каплан-Мейера с использованием Log-rank-критерия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Чтобы оценить влияние МСК на сроки выхода из цитопении, был проведен сравнительный анализ абсолютного количества нейтрофилов, тромбоцитов и лимфоцитов у пациентов с наличием и отсутствием ко-трансплантации МСК. Первую группу (МСК+) составили 74 больных, которым трансплантацию ГСК дополняли введением полученных накануне аутологичных МСК. Доза МСК варьировала от 0,01 до $1,38 \times 10^6$ клеток/кг (медиана $0,178 \times 10^6$ клеток/кг). Вторую группу (МСК-) составили 83 пациента, которым аутологичная ТГСК проводилась стандартно без МСК. Сравнимые группы значимо не различались по возрасту, полу, распределению больных по нозологическим формам, статусу на момент проведения ТГСК. Пациенты обеих групп характеризовались сходными показателями предлеченности, режимами мобилизации и кондиционирования и количеством вводимых CD34⁺ клеток (медиана $4,48 \times 10^6/\text{кг}$ и $4,45 \times 10^6/\text{кг}$ в группах МСК- и МСК+, соответственно).

Анализ сроков восстановления кроветворения показал, что ко-трансплантация МСК позволила сократить продолжительность посттрансплантационной критической нейтропении (количество нейтрофилов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$) в среднем с 16 до 11 дней. При исследовании длительности периода критической тромбоцитопении III степени (количество тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$) также было выявлено достоверное сокращение сроков тромбоцитопении у пациентов с ко-трансплантацией МСК по сравнению с группой контроля с 10 до 6 суток (табл. 1). Раннее восстановление лимфоцитов в группе МСК+ регистрировалось достоверно чаще, чем в группе МСК- (74 % против 54 %), однако, данные различия проявлялись в виде тенденции.

Предшествующие трансплантации миелоаблативные режимы химиотерапии приводят к развитию состояния глубокого иммунодефицита, в связи с этим серьезной проблемой посттрансплантационного периода являются инфекционные осложнения. Анализ частоты развития инфекционных осложнений в сравниваемых группах не выявил значимых различий (табл. 2). Как в группе больных со стандартной ТГСК, так и у пациентов с ко-трансплантацией МСК инфекционные осложнения регистрировались у подавляющего числа пациентов. Наиболее частыми осложнениями раннего периода

Таблица 1

Продолжительность цитопении

Параметры	Группы больных		Достоверность различий*
	МСК-, n = 83	МСК+, n = 74	
Нейтропения, дни (< 0,5×10 ⁹ /л)	16,37 ± 1,9	11,4 ± 0,4	p _U = 0,010
Тромбоцитопения, дни (< 50×10 ⁹ /л)	10,4 ± 1,4	6,0 ± 0,7	p _U = 0,030
Раннее восстановление лимфоцитов (количество, процент больных)**	44/79 (57 %)	52/70 (74 %)	p _{χ²} = 0,018

Примечание: * – достоверность различий по U-критерию Вилкоксона – Манна – Уитни и по χ². ** – у 4 пациентов из группы МСК– и у 4 из группы МСК+ не определяли восстановление лимфоцитов.

после ТГСК являлись эпизоды фебрильной лихорадки неясного генеза, которые наблюдались у 83 % в группе МСК– и 87 % пациентов в группе МСК+. Поражение слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта (стоматит, эзофагит, гастрит и/или энтеропатия) выявлялось также с одинаковой частотой (79 % и 77 % пациентов в группах МСК– и МСК+). Тем не менее, тяжелые инфекционные осложнения (мукозит III–IV степени, энтеропатия III степени) в группе МСК– выявлялись практически в 2 раза чаще, чем в группе МСК (p_{ТМФ} = 0,053).

Таблица 2
Структура инфекционных осложнений

		МСК–	МСК+	p ^{χ²}
Лихорадка неясного генеза	нет	14 (17 %)	9 (13 %)	0,39
	есть	67 (83 %)	64 (87 %)	
Мукозит и энтеропатия	нет	16 (20 %)	19 (26 %)	0,36
	I–II ст.	42 (51 %)	43 (58 %)	0,39
	III–IV ст.	24 (29 %)	12 (16 %)	0,053

Примечание: * – достоверность различий по χ².

Для исследования влияния МСК на индуцированную химиотерапией нефро- и гепатотоксичность были оценены изменения концентраций креатинина, АлАТ, АсАТ в сыворотке крови. Больные обеих групп исходно характеризовались повышенными уровнями исследуемых показателей на фоне ХТ, которые в течение месяца после ТГСК достоверно снижались в обеих группах в равной степени, что свидетельствовало об отсутствии токсического эффекта вводимых МСК. Анализ в подгруппах с исходно повышенной концентрацией креатинина показал, что через месяц после ТГСК уровень данного показателя в группе МСК+ снижался до нормативных значений, тогда как в группе МСК– оставался повышенным. Кроме того, при анализе индивидуальных значений снижение исходно повышенного уровня креатинина регистрировалось в меньшем проценте случаев, чем в группе МСК+ (47 % против 67 %), хотя различия проявлялись в виде тренда. Таким образом, введение МСК не усугубляло ПХТ-индуцированную нефро- и гепатотоксичность и позитивным образом сказывалось на купировании нефротоксического синдрома.

Анализ общей 5-летней выживаемости выявил выраженную тенденцию к более высоким показателям

выживаемости в группе с МСК (72 % против 54 %, p = 0,15). При этом пациенты с котрансплантацией МСК характеризовались достоверно более высокими показателями 5-летней безрецидивной выживаемости (81 % против 44 %, p = 0,014) (рис. 1).

Проведенные нами исследования показали, что внутривенное введение небольших количеств аутологичных МСК (в среднем, 0,178 × 10⁶ клеток/кг) сокращало продолжительность нейтро- и тромбоцитопении, не оказывало ингибирующего действия на характер восстановления лимфоцитов и более того, повышало частоту ранней реконституции лимфоцитов, - независимого фактора увеличения общей выживаемости и времени до прогрессии после аутологичной ТГСК при неходжкинских лимфомах, лимфомах Ходжкина и миеломной болезни [6, 11]. Отсутствие различий в частоте инфекционных осложнений может служить доказательством отсутствия клинически значимой иммуносупрессии, что, вероятно, связано с небольшим количеством трансфузируемых МСК. Действительно, в настоящее время для предотвращения и лечения РТПХ после аллогенной ТГСК используются достаточно высокие дозы МСК – в среднем, 1,0 – 1,5 × 10⁶/кг [3, 7]. Имеются данные, что при низких количествах МСК или низком уровне базальной пролиферации лимфоцитов, мезенхимальные клетки способны усиливать пролиферативный ответ лимфоцитов на аллоантигены и стимуляцию гомеостатическими цитокинами [5, 8]. Также ранее было показано, что МСК больных лимфомами в отличие от клеток доноров характеризуются сниженной иммуносуперсessorной и наличием стимулирующей активности в смешанной культуре лимфоцитов [1].

Использование МСК не усугубляет индуцированную химиотерапией нефро- и гепатотоксичность, однако на данном этапе исследований не удалось выявить четкого рено- и гепатопротективного эффекта этих клеток, описанного в эксперименте и в клинических исследованиях [12, 14]. Вероятно, отсутствие данного эффекта связано с исходно низкой частотой встречаемости выраженного нефротоксического синдрома в анализируемых группах и использовании относительно невысоких концентраций МСК. Тем не менее, более выраженное (до нормативного уровня) снижение концентрации креатинина в группе (МСК+) указывает на позитивный эффект этих клеток (табл. 3).

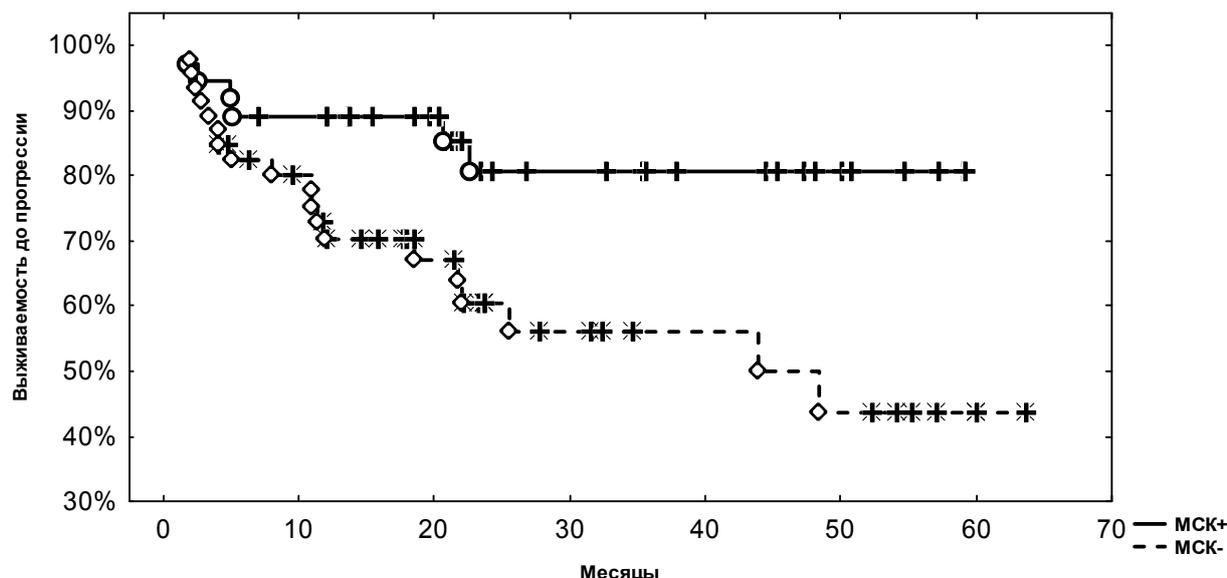


Рис. 1. Анализ выживаемости до прогрессии в группах больных со стандартной ТГСК и ко-трансплантацией МСК. (Представлены данные по выживаемости до рецидива/прогрессии основного заболевания 68 человек в группе МСК-, 60 человек в группе МСК+. В группе МСК- медиана выживаемости составила 43,5 месяца, в группе МСК+ не достигнута. Кривые построены по методу Каплана-Майера, сравнительный анализ кривых выживаемости проводили с использованием непараметрического Log-rank-критерия).

Таблица 3

Индукцированная химиотерапией нефро- и гепатотоксичность

	МСК-	МСК+
АЛТ (количество норм):		
- на фоне ХТ	1,98 ± 0,17 (n = 75)	1,95 ± 0,17 (n = 69)
- через 1 мес. после ТГСК	1,33 ± 0,09**	1,37 ± 0,11**
АСТ (количество норм):		
- на фоне ХТ	1,22 ± 0,06 (n = 75)	1,28 ± 0,08 (n = 70)
- через 1 мес. после ТГСК	1,08 ± 0,03*	1,06 ± 0,03**
Креатинин (мкмоль/л):		
- на фоне ХТ	100,75 ± 4,6 (n = 74)	98,96 ± 4,0 (n = 69)
- через 1 мес. после ТГСК	91,7 ± 5,5**	87,6 ± 3,27**
Группа с повышенным уровнем креатинина (> 1,26 × N _{max}):		
- на фоне ХТ	161 ± 12,7 (n = 15)	156 ± 10,6 (n = 12)
- через 1 мес. после ТГСК	134 ± 22,8*	117 ± 11,3*

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – достоверность различий между показателями на фоне химиотерапии (ХТ) и через 1 месяц по U-критерию Вилкоксона – Манна – Уитни.

Введение МСК не сказывается негативным образом на выживаемости больных и более того, сопровождается увеличением 5-летней безрецидивной выживаемости. Суммируя вышесказанное, можно заключить, что ко-трансплантация ГСК и МСК приводит к сокращению сроков восстановления кроветворения, позитивно влияет на процесс иммунореконституции и показатели безрецидивной выживаемости больных.

ЛИТЕРАТУРА

- Петровский Я.Л., Курганова Е.В., Тихонова М.А. Характеристика мезенхимальных стромальных клеток костного мозга у больных гемобластозами // Гематология и трансфузиология. – 2008. – Т. 53, № 2. – С. 32 – 38.
- Angelopoulou M., Novelli E., Grove J.E. Co-transplantation of human mesenchymal stem cells

enhances human myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in NOD/SCID mice // Exp Hematol. – 2003. – Vol. 31. – P. 413 – 420.

- Battiwalla M., Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation // Cytotherapy. – 2009. – Vol. 11, N 5. – P. 503 – 515.
- Bianco P., Riminucci M., Gronthos S. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications // Stem Cells. – 2001. – Vol. 19. – P. 180 – 192.
- Bocelli-Tyndall C., Bracci L., Schaeren S. Human bone marrow mesenchymal stem cells and chondrocytes promote and/or suppress the in vitro proliferation of lymphocytes stimulated by interleukins 2, 7 and 15 // Ann Rheum Dis. – 2009. – Vol. 68. – P. 1352 – 1359.
- Gordan L.N., Sugrue M.W., Lynch J.W. Correlation of early lymphocyte recovery and progression-free survival after autologous stem-cell transplant in

patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma // Bone Marrow Transplant. — 2003. — Vol. 31. — P. 1009—1013.

7. Le Blanc K., Frassoni F., Ball L. Mesenchymal stem cells for treatment of steroidresistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study // Lancet. — 2008. — Vol. 371. — P. 1579—1586.

8. Le Blanc K., Tammik L., Sundberg B., Haynesworth S.E. et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex // Scand. J. Immunol. — 2003. — Vol. 57. — P. 11—20.

9. Majumdar M.K., Thiede M.A., Haynesworth S.E., Bruder S.P. et al. Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages // J Hematother Stem Cell Res. — 2000. — Vol. 9. — P. 841—848.

10. Ning H., Yang F., Jiang M. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells

and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study // Leukemia. — 2008. — Vol. 22. — P. 593—599.

11. Porrata L.F., Litzow M.R., Inwards D.J. Infused peripheral blood autograft absolute lymphocyte count correlates with day 15 absolute lymphocyte count and clinical outcome after autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma // Bone Marrow Transplant. — 2004. — Vol. 33. — P. 291—298.

12. Salem H.K., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status // Stem Cells. — 2010. — Vol. 28. — P. 585—596.

13. Sergeevicheva V.V., Shevela E.Y., Sizikova S.A. Autologous mesenchymal stromal cells of hemoblastosis patients efficiently support hematopoietic recovery after stem cell transplantation // Cellular Therapy and Transplantation. — 2010. — Vol. 1, N 4. — P. 98—105.

14. Tyndall A., Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks // Bone Marrow Transplant. — 2009. — Vol. 43. — P. 821—828.

Сведения об авторах

Баторов Егор Васильевич – аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН (630090, г. Новосибирск, ул. Жемчужная, 32-43; тел.: +7-953-877-82-19; e-mail: Ebatov@gmail.com)

Шевела Екатерина Яковлевна – старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, кандидат медицинских наук

Крючкова Ирина Валентиновна – заведующая отделением гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, кандидат медицинских наук

Баранова Дарья Сергеевна – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии, ФПК и ППВ НГМУ, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН

Сергеевичева Вера Васильевна – врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, кандидат медицинских наук

Сизикова Светлана Анатольевна – врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, кандидат медицинских наук

Ушакова Галина Юрьевна – врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, кандидат медицинских наук

Гилевич Андрей Викторович – заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии, клиника иммунопатологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, Новосибирск, кандидат медицинских наук

Останин Александр Анатольевич – ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической иммунологии» СО РАМН, доктор медицинских наук

Черных Елена Рэмовна – заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, чл.-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор (630110, г. Новосибирск, ул. Б. Хмельницкого, 62, кв. 4; тел.: 8-(383)-228-57-49; e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru)