

## ХАРАКТЕРИСТИКИ ОБМЕНА СЕЛЕНА У ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

### А.А. Тиньков

к.м.н., науч. сотрудник,  
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова;  
вед. науч. сотрудник,  
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: tinkov.a.a@gmail.com

### О.П. Айсувакова

к.х.н., науч. сотрудник,  
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова;  
ст. науч. сотрудник,  
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет)  
E-mail: oajsuvakova@gmail.com

### А.П. Кузьмичева

аспирант, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова  
E-mail: kuznetsovaap08081987@yandex.ru

### А.В. Скальный

д.м.н., профессор, зав. лабораторией,  
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова;  
зав. лабораторией,  
Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет);  
зав. кафедрой,  
Российский университет дружбы народов (Москва)  
E-mail: skalny3@gmail.com

Ряд работ продемонстрировал высокий риск нарушений обмена микронутриентов у детей с детским церебральным параличом (ДЦП). Однако данные относительно обеспеченности организма эссенциальными микроэлементами, в частности селеном, крайне недостаточны. Целью настоящего исследования явилось определение уровня селена в сыворотке крови, моче и волосах детей с ДЦП. Уровень селена в волосах, сыворотке крови и моче 52 детей с ДЦП в возрасте 2–8 лет и 52 контрольных обследуемых определялся методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на NexION 300D (Perkin Elmer, США). Показано, что уровень селена в сыворотке крови у детей с ДЦП достоверно превышал контрольные значения на 12% ( $0,088 \pm 0,013$  vs  $0,099 \pm 0,034$  мкг/мл;  $p = 0,037$ ). Уровень селена в волосах пациентов, напротив, характеризовался достоверным 5%-ным снижением по сравнению с соответствующими значениями у здоровых детей ( $0,386$  ( $0,308-0,498$ ) vs  $0,368$  ( $0,250-0,467$ ) мкг/г;  $p = 0,042$ ). При этом достоверных различий в концентрации селена с мочой, свидетельствующих об интенсивности экскреции металлоида, выявлено не было. Множественный регрессионный анализ позволил установить, что в исходной модели, включающей содержание селена в исследуемых субстратах, достоверными предикторами являлись уровни металлоида в сыворотке ( $\beta = 0,233$ ;  $p = 0,017$ ) и волосах ( $\beta = -0,207$ ;  $p = 0,035$ ). Учитывая предполагаемый вклад селена в тяжесть психомоторных нарушений, детям с ДЦП рекомендована персонализированная оценка особенностей обмена селена с последующей разработкой стратегий коррекции металло-лигандного гомеостаза.

**Ключевые слова:** детский церебральный паралич; селен; ИСП-МС; селенопротеины.

**Для цитирования:** Тиньков А.А., Айсувакова О.П., Кузьмичева А.П., Скальный А.В. Характеристики обмена селена у детей с детским церебральным параличом. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(11):43–48. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-07>

Детский церебральный паралич (ДЦП) является ведущей причиной нарушения моторной функции у детей, отмечаясь в двух случаях на каждую 1000 новорожденных [1].

Наряду с нарушением моторной функции, ДЦП сопровождается и другими выраженными нарушениями функционирования органов и систем [2], что существенно снижает качество жизни детей и их семей [3].

Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что дети с ДЦП характеризуются высокой частотой нарушений микронутриентного статуса, которые могут вносить существенный вклад в тяжесть заболевания [4]. Однако данные обеспеченности организма детей с ДЦП эссенциальными металлами немногочисленны и крайне противоречивы. В частности, Hillesund с соавторами продемонстрировал, что частота дефицитов

микроэлементов у детей с ДЦП характеризуется снижением в ряду  $Fe > Zn > Se$  [5].

Результаты ранее проведенного нами исследования также выявили достоверное снижение уровня селена в волосах пациентов с ДЦП [6]. Напротив, обследование детей с ДЦП в Гане выявило достоверное повышение уровня селена в организме пациентов по сравнению с контрольными значениями [7].

Учитывая значительную роль селена в функционировании нервной системы, особенно на этапе ее развития [8], а также его потенциальную роль в нейропротекции [9], обмен селена у детей с ДЦП может являться мишенью фармаконутрицевтической коррекции. В то же время нейротоксическое действие селена при избыточном воздействии [10] еще в большей степени подчеркивает необходимость оценки обмена селена у детей с ДЦП.

Цель исследования – определение уровня селена в сыворотке крови, моче и волосах детей с детским церебральным параличом методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами, установленными в Хельсинкской декларации (1964 г.), и ее последующими поправками. Перед включением в исследование было получено письменное информированное согласие родителей или законных опекунов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом (Ярославский государственный университет, Ярославль, Россия).

Обследовано 52 ребенка (соотношение по полу 1:1) с ДЦП в возрасте от 2 до 8 лет, а также 52 здоровых ребенка (контроль), соответствующих пациентам по возрасту и полу. Таким образом, средний возраст детей в обеих группах составил  $4,83 \pm 1,89$  г. В то же время дети с ДЦП характеризовались достоверно меньшими показателями роста ( $115,9 \pm 14,8$  vs  $106,5 \pm 13,5$  см;  $p < 0,001$ ) и массы тела ( $21,4 \pm 8,3$  vs  $15,8 \pm 4,9$  кг;  $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольными обследуемыми.

В дальнейшем дети были распределены на 1-ю (2–5 лет) и 2-ю (6–8 лет) возрастные группы.

Все обследуемые дети в различное время в течение года принимали витаминно-минеральные комплексы, но не монопрепараты микроэлементов, в том числе и селена. Из исследования исключались дети с эндокринными заболеваниями (ожирение, сахарный диабет, нарушения функции щитовидной железы), а также воспалительными заболеваниями в стадии обострения.

Для оценки обмена селена в организме использованы образцы сыворотки крови, мочи, волос. При проведении пробоподготовки образцы сыворотки крови и мочи разводились 1:15 подкисленным дилуэтом (pH=2,0), содержащим 1% 1-бутанол, 0,1% Тритон-Х, 0,07%  $HNO_3$ , в дистиллированной деионизированной воде. Образцы волос подвергались предварительному промыванию в ацетоне с целью обезжиривания и устранения экзогенных загрязнителей с последующим микроволновым разложением в присутствии азотной кислоты в системе Berghof Speedwave 4 (Berghof Products & Instruments, Германия).

Концентрации селена в образцах сыворотки крови (мкг/мл), мочи (мкг/мл) и волос (мкг/г) после их пробоподготовки определялись методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на спектрометре NexION 300D (Perkin Elmer Inc., Shelton, CT 06484, США). Калибровка прибора проводилась с использованием стандартных растворов, приготовленных на основе Data Acquisition Standards Kit (PerkinElmer Inc., CT, США) посредством разведения дистиллированной деионизированной водой. Для внутренней стандартизации были использованы растворы иттрия и родия (Yttrium (Y) и Rhodium (Rh) Pure Single-Element Standards (PerkinElmer Inc. Shelton, CT, США)) в концентрации 10 мг/л.

Помимо этого, на протяжении всего исследования выполнялся контроль качества с использованием сертифицированных референтных образцов волос GBW09101 (Shanghai Institute of Nuclear Research, PRC), плазмы крови ClinChek® Plasma Control и мочи ClinChek® Urine Control (RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, Германия).

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 (Statsoft, Tulsa, OK, США). Критерий Шапиро–Уилка использовался для оценки нормальности распределения данных для последующего выбора описательных статистик и обработки данных. В связи с нормальным распределением, данные о концентрации селена в сыворотке крови выражались в виде арифметической средней и соответствующей величины среднеквадратического отклонения, в то время как медиана и 25–75 центильный интервал использованы для характеристики уровня селена в волосах и моче в связи с

распределением, отличным от нормального. Сравнительный по-групповой анализ уровня селена в общих группах выполнялся методом однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA). При этом данные о содержании селена в волосах и моче в связи с ненормальным распределением были предварительно подвержены логарифмированию с целью приближения характера распределения к гауссовскому и возможности использования ANOVA и ANCOVA. Из-за достоверных различий в росте и весе детей с ДЦП по сравнению с контролем, при сравнении осуществлялась поправка на величину роста и массы тела методом ANCOVA. Для оценки достоверности влияния возраста и наличия ДЦП на уровень селена в индикаторных биосубстратах проведен двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с последующим по-групповым сравнением посредством LSD-критерия Фишера. Значимость используемых тестов считалась достоверной при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении сравнительного группового анализа методом однофакторного дисперсионного анализа (рис. 1) установлено, что уровень селена в сыворотке крови у детей с ДЦП достоверно превышал контрольные значения на 12%. Напротив,

уровень селена в волосах пациентов характеризовался достоверным 5%-ным снижением по сравнению с соответствующими значениями у здоровых детей. При этом достоверных различий в концентрациях селена в моче, свидетельствующих об интенсивности экскреции металлоида выявлено не было. Отметим, что различия в уровнях селена в сыворотке крови и волосах являлись достоверными и после поправки на различия в росте и массе тела (ANCOVA). При проведении сравнительного анализа маркеров обмена селена после группировки обследуемых по возрасту детей (табл. 1) установлено, что концентрация селена в сыворотке пациентов с ДЦП достоверно превышает контрольные значения на 19% лишь во второй возрастной группе ( $p = 0,018$ ).

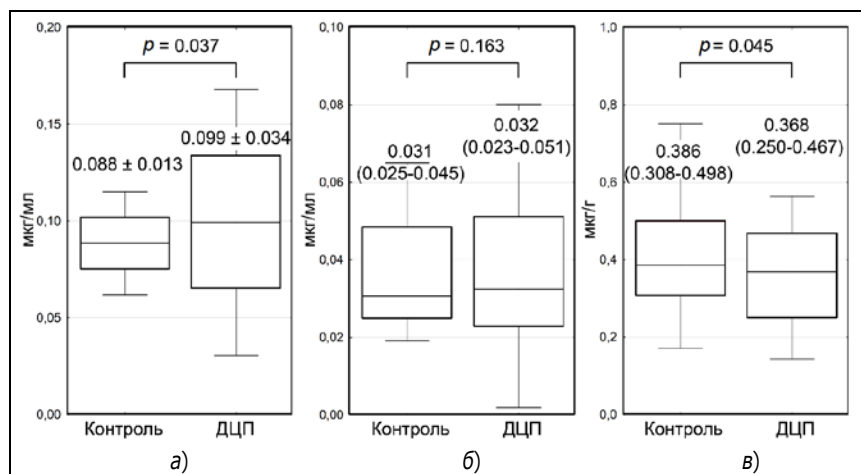


Рис. 1. Уровень селена в сыворотке (а), моче (б) и волосах (в) детей с ДЦП и контрольными обследуемыми

Таблица 1. Анализ возрастных особенностей обмена селена у детей с детским церебральным параличом

Показатель		Сыворотка, мкг/мл	Моча, мкг/мл	Волосы, мкг/г
One-way ANOVA				
Группа	Контроль 2–5 лет	0,092 ± 0,016	0,033 (0,024–0,094)	0,387 (0,354–0,498)
	Контроль 6–8 лет	0,086 ± 0,010	0,029 (0,025–0,048)	0,387 (0,291–0,455)
	ДЦП 2–5 лет	0,096 ± 0,027	0,042 (0,027–0,072)	0,386 (0,258–0,467)
	ДЦП 6–8 лет	0,102 ± 0,040 <sup>1</sup>	0,029 (0,020–0,045)	0,334 (0,250–0,467)
Two-way ANOVA p value				
Фактор	ДЦП	0,043*	0,205	0,044*
	Возраст	0,962	0,060	0,616
	ДЦП*Возраст	0,220	0,227	0,784

Примечание: данные представлены в виде средней ± SD (сыворотка) или медианы (25–75 центили) (моча, волосы); <sup>1</sup> – достоверность отличий по сравнению с контрольной группой детей в возрасте 2–5 лет; \* – влияние фактора достоверно при  $p < 0,05$ .

Наиболее выраженные изменения уровня селена в волосах также отмечались во второй возрастной группе пациентов с ДЦП, характеризующихся 13%-ным снижением относительно контроля. Однако данное изменение по значимости лишь приближалось к достоверному. В случае концентрации селена в моче сколько-нибудь значимых изменений в возрастных группах пациентов выявлено не было.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил сравнительный вклад наличия ДЦП и возрастных различий в вариабельность маркеров обмена селена. Установлено, что наличие ДЦП оказывало достоверное влияние на уровень селена в сыворотке крови и волосах детей. Несмотря на отсутствие значимого влияния ДЦП на концентрацию селена в моче, данный параметр характеризовался влиянием возрастных различий, близким к достоверному. Отметим, что ни для одного из субстратов, факториальное взаимодействие (ДЦП\*Возраст) не являлось сколько-нибудь значимым.

Множественный регрессионный анализ (табл. 2) позволил установить, что в исходной модели (Модель 1), включающей содержание селена в исследуемых субстратах, достоверными предик-

**Таблица 2. Множественный регрессионный анализ взаимосвязи между уровнем селена в индикаторных биосубстратах и детским церебральным параличом**

Параметр	Модель 1		Модель 2	
	$\beta$	$p$	$\beta$	$p$
Сыворотка Se, мкг/мл	0,237	0,029	0,212	0,041*
Моча Se, мкг/мл	-0,073	0,505	-0,103	0,327
Волосы Se, мкг/г	-0,239	0,032	-0,199	0,059
Рост, см	-	-	-0,307	0,111
Вес, кг	-	-	-0,061	0,752
Multiple R	0,333		0,488	
Multiple R <sup>2</sup>	0,111		0,238	
Adjusted R <sup>2</sup>	0,077		0,188	
$p$ for a model	0,025*		0,001*	

Примечание: Данные представлены в виде коэффициента регрессии ( $\beta$ ) и соответствующих значений  $p$ ; \* – взаимосвязь достоверна при  $p < 0,05$ .

торами являлись уровень металлоида в сыворотке и волосах. При этом данная модель обладала достоверной, хотя и незначительной, предиктивной значимостью (8%). После поправки на различия в возрасте и массе тела (Модель 2) уровень селена в волосах оставался положительно ассоциирован с наличием ДЦП. Однако предикторная значимость содержания селена в волосах характеризовалась пограничными значениями ( $p < 0,06$ ).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о нарушении обмена селена у пациентов с ДЦП, характеризующимся его повышением в сыворотке крови на фоне снижения содержания в волосах. При этом такие нарушения отмечаются в большей степени у пациентов старшей возрастной группы.

Полученные данные значительно противоречат ранее отмеченному дефициту селена у пациентов с ДЦП и его резистентности к коррекции [7]. В то же время в детальном исследовании Hillesund et al. (2007) дефицит селена у пациентов с ДЦП регистрировался существенно реже по сравнению с недостаточным уровнем цинка и железа. Более того, в одной из работ также было выявлено достоверное превышение уровня селена по сравнению с контрольной группой [11]. Как и в проведенном нами ранее обследовании детей с ДЦП в возрасте 0–4 лет [6], установлено достоверное снижение уровня селена в волосах. Имеющиеся противоречия между литературными данными и результатами данного исследования могут быть, с одной стороны, обусловлены различиями в использовании индикаторных биосубстратов, что отчетливо продемонстрировано в данном исследовании. С другой стороны, необходимо принимать различия в базальном уровне селена в популяции, отражением которого является контрольная группа, что может в значительной степени влиять на выявленные закономерности.

Селен является эссенциальным металлоидом, необходимым для развития нервной системы, в связи с чем нарушения метаболизма селена могут быть связаны с патологией ЦНС [8]. В частности, дефициты селенопротеинов, таких как селенопротеин Р [12] и SEPSEC [13], могут быть связаны соответственно с выраженными неврологическими нарушениями и мозжечковой атрофией. В аспекте нарушений, характерных для детского церебрального паралича, важно отметить взаимосвязь между уровнем селена в организме и психомоторным развитием [14]. В то же время отмечено, что меж-

ду воздействием селена и нервно-психическим развитием ребенка имеется U-образная взаимосвязь, при которой как дефицит, так и избыток селена могут оказывать негативное влияние на функционирование нервной системы [15]. Так, нейротоксическое действие селена было продемонстрировано в клинических и лабораторных исследованиях [10]. В частности, избыточная кумуляция селена связана с повышением риска нейродегенеративных заболеваний [16].

Несмотря на то, что характер нарушений обмена селена является достаточно неоднозначным, большая выраженность нарушений обмена селена у детей старшей группы свидетельствует о том, что наблюдаемые различия связаны не с перинатальным воздействием селена. Предполагается, что детский церебральный паралич сопровождается развитием метаболических нарушений, также затрагивающих обмен селена. Несмотря на то, что возможная роль нейротоксического действия селена в сложном патогенезе ДЦП представляется маловероятной, в свете негативных эффектов избытка селена [10] справедливо предположить, что нарушение обмена данного металлоида у детей с ДЦП может вносить определенный вклад в особенности клинического течения и тяжести заболевания.

## Выводы

Нарушения обмена селена при ДЦП носят сложный характер, для информативной оценки которого необходимо определение нескольких, в том числе и функциональных, маркеров обеспеченности организма селеном, таких как уровень и активность отдельных селенопротеинов, с использованием методов спектра-анализа. Полученные данные свидетельствуют о недопустимости использования содержащих селен препаратов у детей с ДЦП без предварительной персонализированной оценки обмена данного элемента в организме.

Учитывая предполагаемый вклад селена в тяжесть психомоторных нарушений, детям с ДЦП рекомендована персонализированная оценка особенностей обмена селена с последующей разработкой стратегий коррекции металло-лигандного гомеостаза. В то же время непосредственные механизмы нарушений обмена селена требуют дальнейшего детального изучения.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации 075-015-2019-393 (МК-1348.2019.7).*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Blair E., Cans C., Sellier E. Epidemiology of the cerebral palsies. In *Cerebral Palsy*. Cham: Springer, 2018. P. 19–28.
2. García C.C., Alcocer-Gamboa A., Ruiz M.P., Caballero I.M. et al. Metabolic, cardiorespiratory, and neuromuscular fitness performance in children with cerebral palsy: a comparison with healthy youth. *Journal of exercise rehabilitation*. 2016; 12(2):124–131.
3. Vargus-Adams J. Health-related quality of life in childhood cerebral palsy. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2005; 86(5):940–945.
4. Schoendorfer N., Boyd R., Davies P.S. Micronutrient adequacy and morbidity: paucity of information in children with cerebral palsy. *Nutrition reviews*. 2010; 68(12):739–748.
5. Hillesund E., Skranes J., Trygg K.U., Bøhmer T. Micronutrient status in children with cerebral palsy. *Acta Paediatrica*. 2007; 96(8):1195–1198.
6. Tinkov A.A., Ajsuvakova O.P., Skalny A.V. A Case-Control Study of Essential and Toxic Trace Elements and Minerals in Hair of 0–4-Year-Old Children with Cerebral Palsy. *Biological trace element research*. 2019; doi 10.1007/s12011-019-01876-3 [в печати].
7. Bebars G.M., Afifi M.F., Mahrous D.M., Okaily N.E., Mounir S.M., Mohammed E.A. Assessment of some micronutrients serum levels in children with severe acute malnutrition with and without cerebral palsy-A follow up case control study. *Clinical Nutrition Experimental*. 2019; 23: 34–43.
8. Fradejas-Villar N., Schweizer U. Selenium and Neurodevelopment. In *Selenium*. Cham: Springer, 2018. P. 177–192.
9. Brüer A.U., Savaskan N.E. Molecular actions of selenium in the brain: neuroprotective mechanisms of an essential trace element. *Reviews in the Neurosciences*. 2004; 15(1):19–32.
10. Vinceti M., Mandrioli J., Borella P. et al. Selenium neurotoxicity in humans: bridging laboratory and epidemiologic studies. *Toxicology letters*. 2014; 230(2): 295–303.
11. Asmah R.H., Anyele A., Asare-Anane H. et al. Micronutrient levels and antioxidant status in pediatric cerebral palsy patients. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*. 2015; 4: 73–77.
12. Raman A.V., Pitts M.W., Seyedali A., Hashimoto A.C. et al. Absence of selenoprotein P but not selenocysteine lyase results in severe neurological dysfunction. *Genes, Brain and Behavior*. 2012; 11(5): 601–613.
13. Iwama K., Sasaki M., Hirabayashi S., Ohba C., Iwabuchi E. et al. Milder progressive cerebellar atrophy caused by biallelic SEPSECS mutations. *Journal of human genetics*. 2016; 61(6): 527–531.
14. Polanska K., Krol A., Sobala W., Gromadzinska J., Brodzka R. et al. Selenium status during pregnancy and child psychomotor development – Polish Mother and Child Cohort study. *Pediatric research*. 2016; 79(6): 863–874.
15. Amorós R., Murcia M., Ballester F., Broberg K. et al. Selenium status during pregnancy: Influential factors and effects on neuropsychological development among Spanish infants. *Science of the Total Environment*. 2018; 610: 741–749.
16. Cardoso B.R., Hare D.J., Bush A.I. The Role of Selenium in Neurodegenerative Diseases. In *Biometals in Neurodegenerative Diseases*. Academic Press, 2017. P. 35–49.

Поступила 16 сентября 2019 г.

## CHARACTERISTICS OF SELENIUM EXCHANGE IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY

© Authors, 2019

### A.A. Tinkov

Ph.D. (Med.), Research Scientist, Yaroslavl State University;  
Leader Research Scientist, Sechenov University (Moscow)  
E-mail: tinkov.a.a@gmail.com

### O.P. Ajsuvakova

Ph.D. (Chem.), Research Scientist, Yaroslavl State University;  
Senior Research Scientist, Sechenov University (Moscow)  
E-mail: oajsuvakova@gmail.com

### A.P. Kuzmicheva

Post-graduate Student, Yaroslavl State University  
E-mail: kuznetsovaap08081987@yandex.ru

### A.V. Skalny

Dr.Sc. (Med.), Professor, Head of Laboratory, Yaroslavl State University;  
Head of Laboratory, Sechenov University (Moscow);  
Head of Department, RUDN University (Moscow)  
E-mail: skalny3@gmail.com

A number of studies demonstrate high risk of micronutrient disorders in children with cerebral palsy. However, the existing data on trace element status and particularly selenium are insufficient. Therefore, the objective of the present study is assessment of serum, urinary, and hair Se levels in children with cerebral palsy. Se levels were assessed in 52 children with cerebral palsy aged 2-8 y.o. and 52 healthy controls using inductively-coupled plasma mass spectrometry at NexION 300D (PerkinElmer, USA). The obtained data demonstrate that serum Se levels in cerebral palsy were 12% higher than the control values ( $0.088 \pm 0.013$  vs  $0.099 \pm 0.034$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $p=0.037$ ). Oppositely, hair Se content was characterized by a 5% decrease when compared to the healthy controls ( $0.386$  ( $0.308$ - $0.498$ ) vs  $0.368$  ( $0.250$ - $0.467$ )  $\mu\text{g/g}$ ;  $p = 0.042$ ). No significant group difference in urinary Se levels were observed. Multiple regression analysis demonstrated that in a crude model both serum ( $\beta=0.233$ ;  $p=0.017$ ) and hair ( $\beta=-0.207$ ;  $p=0.035$ ) Se levels were significantly associated with cerebral palsy. Given a significant role of selenium in psychomotor dysfunction, personalized assessment of Se status is recommended to children with cerebral palsy in order to manage the strategies of pharmaco-nutraceutical correction of metal-ligand homeostasis.

**Key words:** cerebral palsy, selenium, inductively-coupled plasma mass spectrometry, selenoprotein.

**For citation:** Tinkov A.A., Ajsuvakova O.P., Kuzmicheva A.P., Skalny A.V. Characteristics of selenium exchange in children with cerebral palsy. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(11):43-48.  
<https://doi.org/10.29296/25877313-2019-11-07>



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт  
лекарственных и ароматических растений»  
приглашает к сотрудничеству  
фармпроизводителей и сельхозпредприятия  
для совместного продвижения наших научных разработок.  
Мы предлагаем лекарственные фитопрепараты к производству  
и агротехнологии лекарственных и ароматических культур  
для выращивания в различных регионах России

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18

e-mail: vilarnii.ru

www.vilarnii.ru