

DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-60-66

Анализ биологических свойств клеток меланомы на разных этапах опухолевой прогрессии и метастазирования

Палкина Н. В., Комина А. В., Аксененко М. Б., Рукша Т. Г.

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого
Министерства здравоохранения Российской Федерации
660022, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

Цель: анализ опухолевой гетерогенности биологических свойств клеток метастазов меланомы кожи на основе применения биометрических методов оценки популяций клеток, находящихся на различных этапах канцерогенеза, с целью расширения представления об опухолевой гетерогенности и клинической значимости этого феномена.

Материалы и методы. Проведен сравнительный анализ клеточных культур меланомы кожи, отражающих различные этапы опухолевой прогрессии/метастазирования, по следующим критериям: выраженности апоптоза, пролиферации/метаболической активности, соотношению фаз клеточного цикла, хромосомной конституции, способности к инвазии и миграции.

Результаты. Установлено, что клетки меланомы, полученные из висцерального метастаза и представляющие меланомогенез на более поздних этапах опухолевой прогрессии, характеризуются более высокими пролиферативным/метаболическим потенциалом и способностью к миграции, а также митотическим потенциалом. Клетки меланомы, полученные из метастаза лимфатического сосуда, имеют более высокие показатели инвазивной активности и выраженности полиплоидии, что косвенно указывает на больший мутационный потенциал данных опухолевых клеток. При этом клетки обеих линий не имеют различий по выраженности апоптоза.

Заключение. Культуры клеток меланомы в зависимости от локализации метастаза демонстрируют различную способность к росту, миграции и инвазии. В соответствии с концепцией персонализированного подхода к терапии является обоснованным развитие технологий получения клеток от индивидуального пациента с их последующим тестированием *in vitro*, *in vivo* для более объективного выбора терапевтических средств.

Ключевые слова: **меланома кожи, метастазы, персонифицированная терапия, биометрическая оценка клеток, апоптоз, миграция, инвазия, клеточный цикл, МТТ, проточная цитометрия, полиплоидия**

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Для цитирования: Палкина Н. В., Комина А. В., Аксененко М. Б., Рукша Т. Г. Анализ биологических свойств клеток меланомы на разных этапах опухолевой прогрессии и метастазирования. Вестник дерматологии и венерологии. 2017;(6):60–66. DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-60-66

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-44-242056), Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности (доп. Соглашение № 15/16 к Соглашению о порядке целевого финансирования № 11 от 12.08.2016).

Biometric Analysis of Melanoma Cells Due to Various Metastasis Origin

Nadezhda V. Palkina, Anna V. Komina, Mariya B. Aksenenko, Tat'yana G. Ruksha

Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation
Partizana Zheleznyaka str., 1, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

Objective: biometric analysis of melanoma cells derived from different types of primary or secondary tumors could be necessary for better understanding tumor heterogeneity as that phenomenon would affect significantly the anti-cancer therapy efficacy.

Materials and Methods. A comparative analysis of melanoma cells that reflect different stages of tumor progression was accomplished with following parameters tested: intensity of apoptosis, proliferation/metabolic activity, the ratio of the cell cycle phases distribution, chromosomal constitution analysis, invasion, and migration capacity.

Results. It was found that melanoma cells derived from visceral metastases characterized by a high proliferative/metabolic potential, migratory ability, and mitotic potential. Melanoma cells which represent earlier stages of carcinogenesis have higher invasive activity and percentage of polyploidy cells, indicating high mutational potential. Both cell lines have no differences in the expression of apoptosis.

Conclusion. Melanoma cells derived from metastasis demonstrate various abilities for growth, migration, and invasion depending on metastasis origin. In that context, isolation of pathological cells and tissues, both native and fixed, followed by their individual testing for each patient will have a high demand for both fundamental and clinical medicine for more adequate therapy choice.

Keywords: skin melanoma, metastasis, personalized therapy, the biometric evaluation of cells, apoptosis, migration, invasion, cell cycle, MTT, flow cytometry, polyploidy

Conflict of interest: the authors state that there is no potential conflict of interest requiring disclosure in this article.

For citation: Palkina N. V., Komina A. V., Aksenenko M. B., Ruksha T. G. Biometric Analysis of Melanoma Cells Due to Various Metastasis Origin. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2017;(6):60–66. DOI: 10.25208/0042-4609-2017-93-6-60-66

The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (project No. 16-44-242056), the Government of the Krasnoyarsk Territory, the Krasnoyarsk Territory Fund for the Support of Scientific and Technological Activities (Additional Agreement No. 15/16 to the Agreement on the Procedure for Targeted Financing No. 11 dated 08/12/2016).

Введение

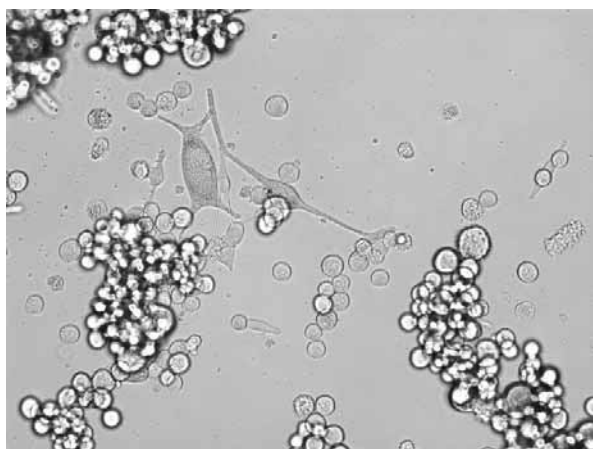
Ранняя диагностика злокачественных новообразований кожи является важным фактором для увеличения показателей выживаемости и снижения уровня смертности от данной патологии. В первую очередь актуальность ранней диагностики высока для меланомы кожи, составляющей 12,3% в общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями кожи, но являющейся причиной 69,7% случаев всех смертельных исходов при злокачественных новообразованиях кожи [1].

Оптимизация подходов к диагностике меланомы кожи происходит по нескольким направлениям: неинвазивная диагностика (дерматоскопия, конфокальная микроскопия), молекулярно-биологическая диагностика (флуоресцентная гибридизация *in situ*) [2, 3]. Вместе с тем основной проблемой всех современных молекулярно-биологических методов диагностики, затрудняющей их широкое внедрение в клиническую практику, является гетерогенность опухолевой ткани, которая заключается в наличии в ткани опухоли различных типов клеток помимо собственно опухолевых клеток — фибробластов, эндотелиоцитов, гетерогенных субпопуляций лимфоцитов [4]. Ситуация осложняется тем, что сами опухолевые клетки в пределах одной опухоли неоднородны по многим характеристикам — морфологии, метаболизму, различаются по набору мутаций, эпигенетических изменений, как следствие — способности к миграции, инвазии и т.д. [4, 5].

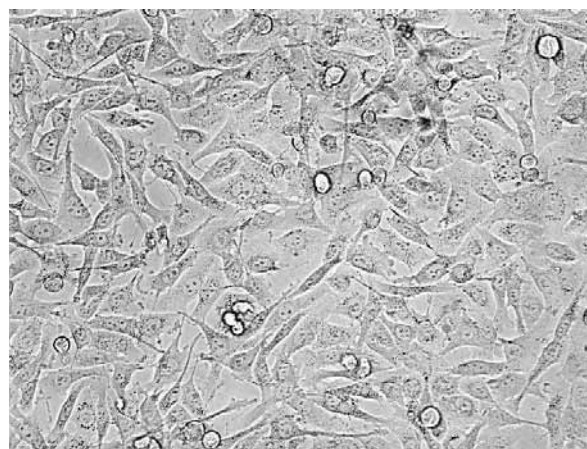
В этой связи целью данного исследования являлось сравнение биологических характеристик клеток метастазов меланомы, полученных от пациентов с различным уровнем распространенности метастазирования.

Материалы и методы

Производили культивирование клеток меланомы двух различных клеточных линий: SK-MEL1 (ATCC® HTB-67™), предоставленной ФГБУ ЦСП Минздрава России (г. Москва), и BRO, предоставленной ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск), представляющих меланому кожи на различных стадиях метастазирования. Культура SK-MEL1 (ATCC HTB-67), описанная как малоадгезивная и слабоинвазивная меланома (рис. 1) с относительно невысокой скоростью роста, была получена из метастаза в грудной лимфатический проток у 29-летнего пациента мужского пола [6]. Данная клеточная линия является примером клеток, появившихся в результате проникновения опухолевых клеток в сосуды кровеносной и лимфатической систем [7]. Меланома BRO, полученная из метастаза в легкое от 34-летнего мужчины, характеризуется как агрессивная адгезивная культура (см. рис. 1) с высокой скоростью роста [8] и является вариантом следующего этапа опухолевой прогрессии — метастазирования в легочную ткань, для которого характерно поражение метастазами внутренних органов [7]. Культивирование клеток осуществляли с использованием питательной среды RPMI-1640 (Gibco, Life Technologies, США) с 10% бычьей фетальной сывороткой и добавлением смеси антибиотика-антимикотика в условиях CO₂-инкубатора при 5% CO₂ и температуре 37 °С. Смену питательной среды осуществляли 2–3 раза в неделю. Все биометрические исследования с клетками выполняли после проведения нескольких пассажей культур при способности культур к равномерному делению и прогрессивному росту.



А



Б

Рис. 1. Клетки меланомы кожи: а — линии SK-MEL1; видны единичные клетки, которые прикреплены к поверхности культурального матраса (они имеют «распластанную» форму), а большинство остальных клеток имеют правильную шаровидную форму и находятся во взвешенном состоянии в виде скоплений, напоминающих виноградные гроздья; б — линии BRO; видно множество клеток веретеновидной и звездчатой формы, которые прочно прикреплены к поверхности

Для исследования динамики изменения пролиферации/метаболической активности исследуемых клеточных культур посредством МТТ-теста клетки рассеивали в 96-луночные планшеты в концентрации 5×10^4 клеток/мл и инкубировали в равных условиях в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С и 5% концентрации CO₂. В течение эксперимента смену питательной среды осуществляли каждые 24 ч. Через 24, 48, 72 и 96 ч инкубирования проводили МТТ-тест. Для этого в культуральную среду

добавляли раствор 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид (МТТ) (Sigma-Aldrich, США) в фосфатно-солевом растворе (PBS) в концентрации 5 мг/мл. Через 4 ч после инкубации с МТТ оценивали количество образованного клетками формазана — продукта метаболизма МТТ — посредством лизиса клеток в диметилсульфоксиде (MP Biomedicals, LLS, Франция) и измерения оптической плотности раствора на спектрофотометре при длине волны 560 нм. Полу-

ченное значение оптической плотности принимали за уровень пролиферативной/метаболической активности клеток. Исследование проводили в трех технологических повторах.

Для исследования соотношения фаз клеточного цикла и анализа хромосомной конституции осуществляли окраску клеток пропидия йодидом (PI) из набора Ready Probes® Cell Viability Imaging Kit (Blue/Red) (Molecular Probes, США). Для этого готовили клеточные суспензии исследуемых культур, содержащие 1×10^6 клеток/мл, затем отбирали по 1 мл суспензии, производили дважды отмывку охлажденным PBS, после чего клетки фиксировали 70% этанолом при температуре 4 °C в течение часа, затем вновь дважды отмывали охлажденным PBS и обрабатывали клеточный осадок раствором PHКаза А (Ambion, ThermoFisher Scientific, США) в PBS в концентрации 200 мкг/мл в течение 30 мин при комнатной температуре. Далее к образцам добавляли PI в концентрации 100 мкг/мл в PBS, инкубировали 30 мин при комнатной температуре и осуществляли детекцию различных фаз клеточного цикла на проточном цитофлуориметре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США). Исследование проводили в трех технологических повторах. Данная методика позволяет определять и регистрировать клетки с набором хромосом 2n (G1-фаза, по окончании митотического деления), >2n–4n (M-фаза и G2-фаза — репликация ДНК и готовность к делению), а также клетки с набором хромосом >4n, которые были рассмотрены как полиплоидные и многоядерные.

Для оценки клеточной миграции и инвазии использовали набор CytoSelect™ 24-well cell migration and invasion Assay (Cell Biolabs, США). Для этого опухолевые клетки помещали в бессывороточную среду RPMI-1640, создавая суспензию в концентрации 1×10^5 клеток/мл, которую вносили во внутренние камеры-вставки 24-луночных планшетов в наборе, дно которых представлено перфорированной поликарбонатной мембраной (для оценки клеточной миграции) либо мембраной, покрытой матригелем (для исследования инвазии). Под вставкой заполняли камеру питательной средой с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки, которая служила хемоаттрактантом для клеток. Для оценки клеточной миграции через 24 ч после внесения клеток в миграционные камеры удаляли питательную среду и клетки из верхней камеры, а поликарбонатную мембрану фиксировали и окрашивали спиртовым раствором генциана фиолетового, входящим в набор. Далее мембрану отмывали проточной водой для удаления красителя и высушивали естественным путем при комнатной температуре. После помещали мембрану в лизирующий раствор, поставляющийся в наборе, и измеряли интенсивность окраски лизата на спектрофотометре при длине волны 560 нм.

Уровень оптической плотности принимали за уровень миграционной активности клеток исследуемой культуры. Оценка инвазии проводили через 48 ч после помещения клеток в камеру по протоколу, аналогичному оценке миграции, с той лишь разницей, что перед окраской мембраны вместе с клетками из внутренней камеры удаляли и матригель. Исследование миграционной и инвазивной активности клеток также осуществляли в трех технологических повторах.

Для оценки выраженности апоптоза готовили клеточные суспензии исследуемых культур, содержащие

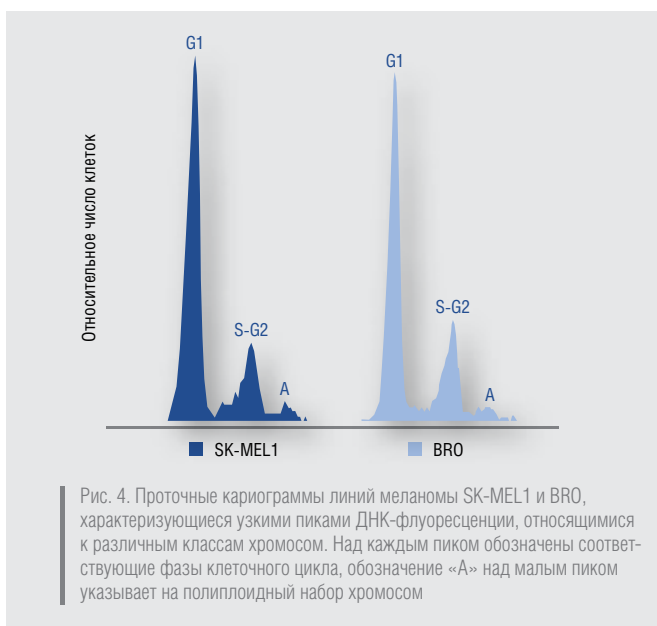
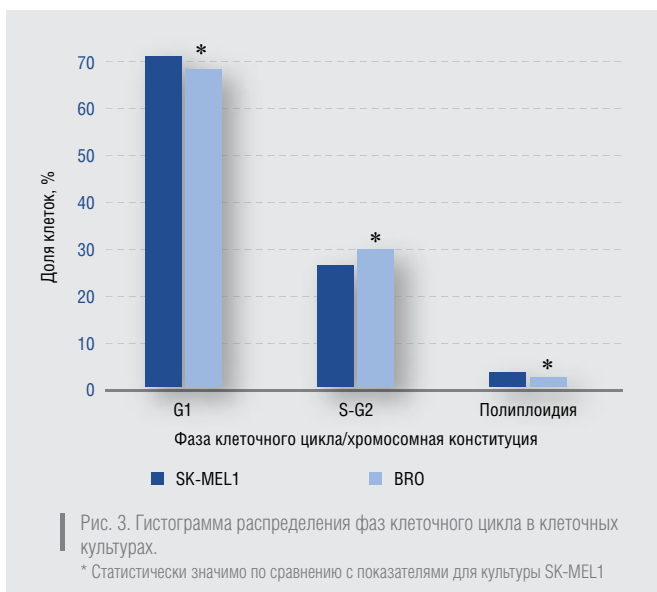
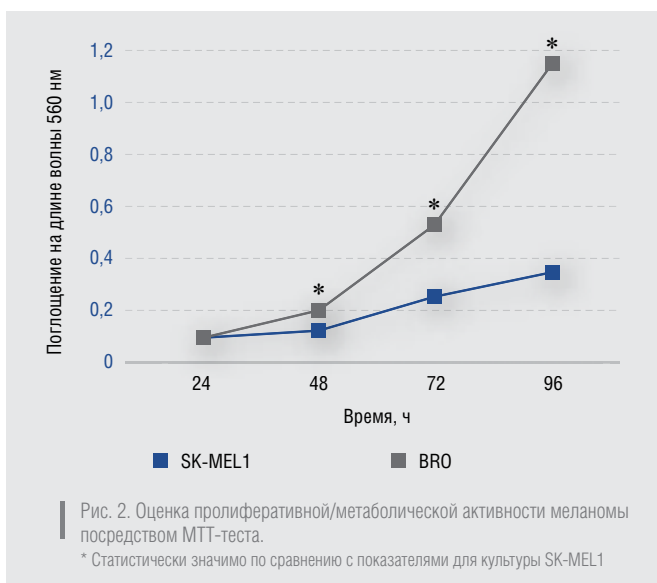
5×10^5 клеток/мл, затем отбирали по 1 мл суспензии, производили дважды отмывку охлажденным PBS, после чего клеточные осадки ресуспендировали необходимым объемом PBS до концентрации 5×10^6 клеток/мл, отбирали 100 мкл готовой суспензии и окрашивали аннексином-V и 7-AAD из комплекта реагентов Annexin V — FITC/7AAD kit (Beckman Coulter, Франция) по протоколу производителя. Детекцию окрашенных клеток выполняли на проточном цитометре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США). Исследование осуществляли в трех технологических повторах.

Параллельно проводили прижизненную окраску клеток на апоптоз красителями NucBlue® Live из комплекта реагентов Ready Probes® Cell Viability Imaging Kit (Blue/Red) (Molecular Probes, США), окрашивающим ядра клеток в синий цвет, и CellEvent® Caspase-3/7 Green (Molecular Probes, США), придающим зеленую флуоресцентную окраску образующимся в клетках каспазам. Визуальную детекцию живых и апоптотических клеток осуществляли на системе флуоресцентной детекции клеток Invitrogen™ EVOS FLoid™ Cell Imaging Station (Life Technologies, США).

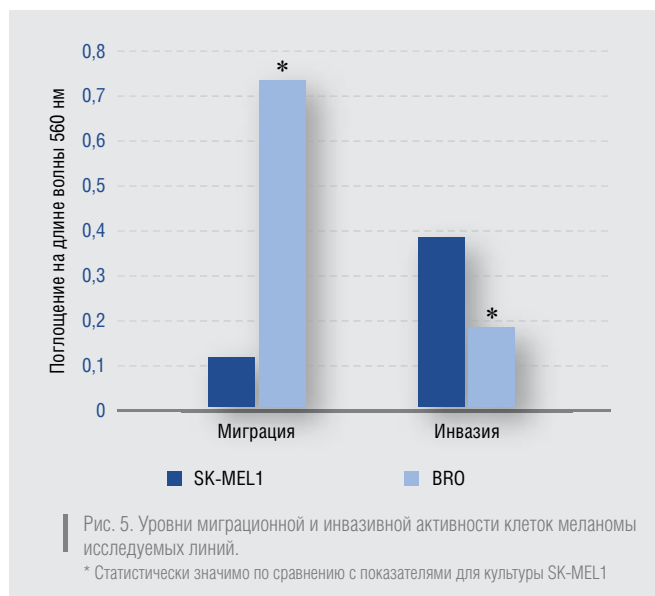
Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи программы Statistica 6.0 (Statsoft, Россия) с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия между сравниваемыми показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

По результатам исследований установлено, что обе клеточные линии имеют способность к равномерному пролиферативному росту, однако начиная с 48 ч и далее на сроках 72 и 96 ч выявлено статистически значимое отставание в пролиферативной/метаболической активности у клеток меланомы SK-MEL1 по сравнению с клетками меланомы BRO ($p = 0,0495$) (рис. 2). Таким образом, пролиферативная/метаболическая активность была выше у клеток меланомы BRO. При анализе процентного соотношения клеток в исследуемых клеточных культурах, находящихся в различных фазах клеточного цикла, а также анализе хромосомной конституции, заключающемся в регистрации процентного содержания клеток, имеющих полиплоидный набор хромосом, методом проточной цитометрии, получено, что процентное содержание клеток в фазе G1 клеточного цикла в культуре меланомы SK-MEL1 выше, чем в культуре меланомы BRO, и составляет $70,9 \pm 0,8\%$ против $67,8 \pm 0,3\%$, $p = 0,0495$ (рис. 3, 4). Процентное содержание клеток в фазах S–G2 в культуре SK-MEL1, наоборот, ниже, чем в культуре BRO, и составляет $26,1 \pm 0,6\%$ против $29,6 \pm 0,3\%$, $p = 0,0495$ (см. рис. 3, 4). Процентное содержание клеток, имеющих полиплоидный набор хромосом, в культуре SK-MEL1 также статистически значимо выше, чем в культуре BRO, и составляет $3,0 \pm 0,2$ и $2,2 \pm 0,2\%$ соответственно, $p = 0,0495$ (см. рис. 3, 4). Таким образом, по результатам анализа фаз клеточного цикла исследуемых культур можно сделать вывод о том, что клеточная линия меланомы BRO характеризуется более выраженным митотическим потенциалом. Более высокий уровень полиплоидных клеток в меланоме SK-MEL1 может свидетельствовать о выраженной хромосомной гетерогенности первичной опухоли или клеток на начальных этапах метастазирования по сравнению с висцеральными метастазами.

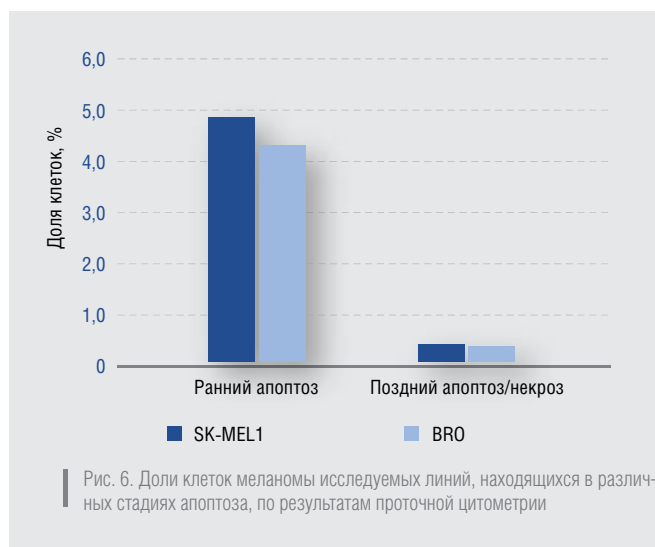


По результатам анализа миграционной и инвазивной активности опухолевых клеток исследуемых линий установлено, что миграционная активность клеток меланомы SK-MEL1 ниже ($p = 0,0495$), чем у клеток меланомы BRO, однако инвазивная активность выше у клеток меланомы SK-MEL1 ($p = 0,0495$), чем у BRO (рис. 5).



По результатам проточной цитометрии после окраски клеток на апоптоз выявлено, что по среднему процентному содержанию апоптотических клеток исследуемые культуры не различаются (рис. 6, 7). В клеточной линии SK-MEL1 количество клеток, находящихся в апоптозе, составляет $5,2 \pm 1,1\%$, а в клеточной линии меланомы BRO — $4,7 \pm 0,2\%$, $p = 0,63$ (см. рис. 6, 7). По процентному соотношению клеток, находящихся в различных стадиях апоптоза (преапоптоза и позднего апоптоза), исследуемые клеточные линии также не имеют статистически значимых различий ($p = 0,75$ и $p = 0,87$ соответственно) (см. рис. 6, 7).

Таким образом, клетки меланомы, полученные из висцеральных метастазов и представляющие меланомогенез на более поздних этапах опухолевой прогрессии, характеризуются более высокими пролиферативным/



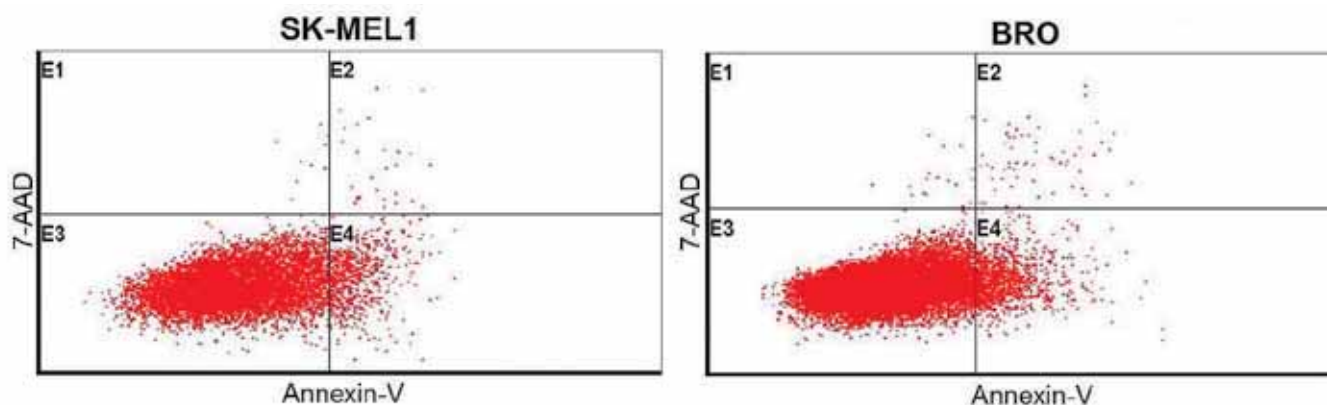


Рис. 7. Диаграммы распределения долей клеток меланомы в исследуемых культурах при исследовании на апоптоз методом проточной цитометрии. В квадрантах E1 и E2 отображена доля клеток, находящихся в стадии позднего апоптоза/некроза, в квадранте E3 — живых клеток, а в квадранте E4 — клеток в стадии раннего апоптоза

метаболическим потенциалом и способностью к миграции, а также митотическим потенциалом. Однако клетки меланомы, представляющие более ранние этапы канцерогенеза, имеют более высокие инвазивную активность и выраженность полиплоидии, что может свидетельствовать о высоком мутационном потенциале клеток опухоли, находящихся на данном этапе меланомогенеза. При этом клетки обеих линий не имеют различий по выраженности апоптоза.

Обсуждение и заключение

По результатам проведенного биометрического исследования нами установлено, что обе анализируемые клеточные линии характеризуются низким уровнем апоптотической гибели клеток, что отражает фундаментальные особенности биологии злокачественных клеток. Однако по иным характеристикам получены значимые практически диаметрально противоположные результаты, что еще раз подтверждает имеющиеся знания о разнородности опухолевых клеток даже одного типа опухоли.

По данным полногеномных исследований установлено, что клетки первичной меланомы и других первичных опухолей, в частности молочной железы, поджелудочной железы, имеют более выраженный мутационный спектр, а также более высокую генетическую гетерогенность, что согласуется с различными моделями метастатической диссеминации, например формированием метастатического субклона в первичной опухоли, а затем доминированием его в метастазе [9]. В литературе кроме интраопухолевой и интраметастатической выделяют также и интерметастатическую гетерогенность, которая заключается в наличии различных биологических свойств и характеристик опухолевых клеток, находящихся в разных метастатических очагах или на разных этапах метастазирования, при этом одной из главных причин таких изменений также считают мутационную активность опухолевых клеток [10]. На этой основе вторичные опухоли, прогрессирующие метастатические очаги приобретают новые характеристики и свойства, улучшающие адаптацию опухоли в организме, — имеют более высокие уровни метаболизма и пролиферации, обладают более высокими возможностями дальнейшего распространения

и уклонения от иммунного надзора и нередко приобретают устойчивость к химиотерапевтическим препаратам [11]. Подобные индивидуальные характеристики клеток могут стать точкой приложения при разработке подходов персонализированной терапии опухолей и индивидуализировать лечение злокачественного новообразования у пациента.

Принципы персонализированной терапии применимы не только для злокачественных новообразований кожи. Данные подходы будут использоваться при других заболеваниях кожи и ее придатков, при которых могут наблюдаться нарушения жизнедеятельности клеток со специфичным изменением их биологических профилей — геномного, транскриптомного, метиломного, протеомного, метаболомного и пр. Целью таких исследований является уточнение патогенетических механизмов заболевания, а также поиск мишеней для таргетной терапии. Например, при исследовании метиломного профиля у больных псориазом и атопическим дерматитом выявлены участки метилирования генов, связанных с повышенным риском развития псориаза, идентифицированы конкретные эпигенетические механизмы иммунных изменений при атопическом дерматите [12, 13]. Исследование транскриптомного профиля при андрогенетической алопеции выявило характерные изменения профилей при прогрессировании заболевания, что может стать предпосылкой разработки индивидуализированного терапевтического воздействия в зависимости от стадии патологического процесса [14]. Оптимизирована технология полного протеомного профилирования клеток кожи человека с целью детального индивидуального анализа изменений белкового и метаболитного состава кожи при различных патологиях, которую также возможно применять в рамках персонализированных подходов к диагностике и лечению в дерматологии [15].

Таким образом, получение подтипов клеток, как нативных, так и фиксированных, с их последующим исследованием у каждого пациента в зависимости от характера и стадии заболевания будет иметь высокую востребованность как для фундаментальной, так и для клинической медицины, позволит по-новому взглянуть на терапевтический подход и индивидуализировать его. ■

Литература/References

- Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена, 2017. [Kaprin A. D., Starinskiy V. V., Petrova G. V. Malignancies in Russia in 2015 (Morbidity and Mortality). M.: MNIOI im. P. A. Gertsena, 2017.]
- Ferris L. K., Harris R. J. New Diagnostic Aides for Melanoma. *Dermatol. Clin.* 2012;30(3):535–545.
- Ferrara G., De Vanna A. C. Fluorescence *in situ* Hybridization for Melanoma Diagnosis: A Review and a Reappraisal. *Am. J. Dermatopathol.* 2016;38(4):253–269.
- Sun X., Yu Q. Intra-Tumor Heterogeneity of Cancer Cells and its Implications for Cancer Treatment. *Acta Pharmacol. Sin.* 2015;36(10):1219–1227.
- Tellez-Gabriel M., Ory B., Lamoureux F. et al. Tumour Heterogeneity: the Key Advantages of Single-Cell Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(12):2142.
- Oettgen H. F., Aoki T., Old L. J. et al. Suspension Culture of a Pigment-Producing Cell Line Derived from a Human Malignant Melanoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 1968;41(4):827–843.
- Mohr P., Eggermont A. M. M., Hauschild A. et al. Staging of Cutaneous Melanoma. *Ann. Oncol.* 2009;20(6):vi14–vi21.
- Lockshin A., Giovanella B. C., De Ipolyi P. D. et al. Exceptional Lethality for Nude Mice of Cells Derived from a Primary Human Melanoma. *Cancer Res.* 1985;45(1):345–350.
- Turajlic S., Furney S. J., Lambros M. B. et al. Whole Genome Sequencing of Matched Primary and Metastatic Acral Melanomas. *Genome Res.* 2012;22(2):196–207.
- Vogelstein B., Papadopoulos N., Velculescu V. E. et al. Cancer Genome Landscapes. *Science.* 2013;339(6127):1546–1558.
- Guan X. Cancer Metastases: Challenges and Opportunities. *Acta Pharm. Sin. B.* 2015;5(5):402–418.
- Zhou F., Wang W., Shen C. et al. Epigenome-Wide Association Analysis Identified Nine Skin DNA Methylation Loci for Psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 2016;136(4):779–787.
- Bin L., Leung D. Y. M. Genetic and Epigenetic Studies of Atopic Dermatitis. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2016;12:52.
- Chew E. G. Y., Ho B. S. Y., Ramasamy S. et al. Comparative Transcriptome Profiling Provides New Insights into Mechanisms of Androgenetic Alopecia Progression. *Br. J. Dermatol.* 2016;176(1):265–269.
- Heywood W. E., Benatti M., Sebire N. J. et al. An Optimised Method for the Proteomic Profiling of Full Thickness Human Skin. *Biol. Proced. Online.* 2016;18:15.

Информация об авторах

Надежда Владимировна Палкина — к.м.н., ассистент кафедры патологической физиологии им. проф. В. В. Иванова Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: MosmanNV@yandex.ru

Анна Владимировна Комина — к.б.н., научный сотрудник кафедры патологической физиологии им. проф. В. В. Иванова Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации

Мария Борисовна Аксененко — к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии им. проф. В. В. Иванова Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации

Татьяна Геннадьевна Рукша — д.м.н., заведующая кафедрой патологической физиологии им. проф. В. В. Иванова Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения Российской Федерации

Information about the authors

Nadezhda V. Palkina — PhD (Medicine), Research Assistant, Department of Pathophysiology named after Prof. V. V. Ivanov, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: MosmanNV@yandex.ru

Anna V. Komina — PhD (biology), Researcher, Department of Pathophysiology named after Prof. V. V. Ivanov, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation

Mariya B. Aksenenko — PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Pathophysiology named after Prof. V. V. Ivanov, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation

Tat'yana G. Ruksha — D.Sci. (Medicine), Head of the Department of Pathophysiology named after Prof. V. V. Ivanov, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V. F. Voyno-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation