

М.М. Юринская^{1, 2}, М.Г. Винокуров^{1, 2}, Е.И. Асташкин¹, С.В. Грачёв¹, Н.С. Орехова¹, А.Н. Новикова¹,
И.Н. Соколова¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

² Институт биофизики клетки РАН, Московская обл., Пушкино, Российская Федерация

Снижение нейротоксического эффекта пероксида водорода в эксперименте на перевиваемых нейронах человека при действии гемодиализата крови телят

Цель исследования: изучить влияние гемодиализата крови телят (ГКТ) на апоптоз и внутриклеточные сигнальные пути клеток нейробластомы SK-N-SH человека. **Методы:** апоптоз клеток регистрировали методом флуоресцентной микроскопии с использованием Hoechst 33342. Некроз клеток контролировали с помощью пропидия йодида. Флуоресценцию клеток регистрировали на инвертированном флуоресцентном микроскопе Keyence BZ8100 (Япония). Образование активных форм кислорода (АФК) в клетках SK-N-SH определяли по оптической плотности при 620 нм с использованием нитросинего тетразолия на планшетном ридере «Униплан». **Результаты:** при добавлении пероксида водорода на фоне действия ГКТ происходило снижение апоптоза этих клеток с 43 до 17% по сравнению с апоптозом в присутствии одного пероксида водорода. В этих условиях ГКТ значительно снижал образование активных форм кислорода в клетках нейробластомы человека SK-N-SH при действии пероксида водорода. В этих клетках было исследовано влияние ГКТ на апоптоз и внутриклеточные сигнальные пути с участием митогенактивируемых протеинкиназ (p38MAPK), экстраклеточных регуляторных киназ (ERK), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI-3K) и c-Jun-N-терминальной киназы (JNK) с использованием их селективных ингибиторов. **Заключение:** впервые показано, что в механизме защитного действия ГКТ в отношении пероксидиндуцированного апоптоза клеток SK-N-SH доминантная роль принадлежит p38 MAPK и PI-3K.

Ключевые слова: апоптоз, гемодиализат крови телят, пероксид водорода, нейробластома SK-N-SH, ингибиторы p38MAPK, ERK, PI-3K, JNK. (Вестник РАМН. 2014; 9–10: 10–14)

10

Обоснование

В клинической практике в качестве лекарственного препарата широко применяют Актовегин — безбелковый гемодиализат крови телят (ГКТ). Этот препарат оказывает инсулиноподобное действие, усиливает энергетический обмен клеток при нарушениях кровообраще-

ния и питания центральной нервной системы (ЦНС) — ишемических инсультах, черепно-мозговых травмах. Его применяют для улучшения периферического кровотока (ангиопатии и трофические язвы голеней), при лечении ран (вялотекущие раны и пролежни) и ожогов, а также при лучевых поражениях [1]. ГКТ характеризуется низкой токсичностью и отсутствием побочных эффектов.

M.M. Yurinskaya^{1, 2}, M.G. Vinokurov^{1, 2}, E.I. Astashkin¹, S.V. Grachev¹, N.S. Orekhova¹, A.N. Novikova¹,
I.N. Sokolova¹

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

² Institute of Cell Biophysics, Moscow Region, Pushchino, Russian Federation

Calf Blood Gemodializat Reduces Neurotoxic Effect of Hydrogen Peroxide on Human Neuroblastoma Cells

Objective: Our aim was to study the effect of calf blood gemodializat on apoptosis and intracellular signaling pathways of neuroblastoma cells SK-N-SH human. **Methods:** Apoptosis was recorded by fluorescent microscopy using Hoechst 33342. Necrosis cells was monitored by propidium iodide. The fluorescence of the cells was recorded on a fluorescence inverted microscope Keyence BZ8100 (Japan). Formation of reactive oxygen species (ROS) in the cells of SK-N-SH was determined using nitroblue tetrazolium by absorbance at 620 nm on a plate reader «Uniplan». **Results:** When adding hydrogen peroxide to the background of the calf blood gemodializat been decreasing apoptosis of these cells with 43 to 17% relative to apoptosis in the presence of a hydrogen peroxide. Under these conditions, the calf blood gemodializat significantly reduced ROS formation in human neuroblastoma cells SK-N-SH by the action of hydrogen peroxide. In these cells, we investigated the influence of calf blood gemodializat on apoptosis and intracellular signaling pathway involving mitogen-activated protein kinase (p38MAPK), extracellular regulatory kinase (ERK), phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K) and Jun-N-terminal kinase (JNK) using their selective inhibitors. **Conclusion:** It was shown that the mechanism of the protective effect of calf blood gemodializat against peroxide-induced apoptosis in SK-N-SH dominant role is played by p38 MAPK and PI-3K.

Key words: apoptosis, calf blood gemodializat, hydrogen peroxide, neuroblastoma, inhibitors p38MAPK, ERK, PI-3K, JNK. (Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 9–10: 10–14)

В его состав входят низкомолекулярные пептиды, производные нуклеиновых кислот, инозитолфосфолигосахариды и другие компоненты с молекулярной массой менее 5 кДа.

Известно, что многие нейродегенеративные заболевания сопровождаются гибелью нейронов по механизму некроза и апоптоза [2]. В случае некроза наблюдается воспалительная реакция, связанная с участием провоспалительных клеток и цитокинов [3]. К таким клеткам в ЦНС относятся клетки микроглии и фагоциты крови при ишемическом инсульте. Показано, что ГКТ снижает содержание радикалов кислорода, продуцируемых фагоцитами крови у пациентов с сердечной недостаточностью [4].

Повреждение клеток под действием оксидативного стресса играет важную роль в патогенезе различных нейродегенеративных заболеваний, в т.ч. болезни Альцгеймера и Паркинсона [5]. Эти повреждения часто происходят под действием радикалов кислорода, а также факторов, образуемых непосредственно нейронами, например β -амилоидных пептидов [6]. В конечном итоге такие воздействия приводят к изменению структуры и нарушению функционирования нейронов и индукции их гибели по механизму апоптоза [2]. Показано, что ГКТ снижает некроз нейронов, индуцированный амилоидным пептидом A β -(25-35), а также образование активных форм кислорода в цитоплазме этих клеток [6].

При нейродегенеративных заболеваниях, а также в случае гипоксии / ишемии мозга в ЦНС образуются значительные количества пероксида водорода, а гибель нервных клеток индуцируется гидроксил-радикалами [7, 8]. Высокие концентрации пероксида водорода (H_2O_2) также обнаруживают в мозге после ишемии-реперфузии [9]. Ранее нами было установлено, что ГКТ снижает гибель клеток нейробластомы человека SK-N-SH, индуцированную пероксидом водорода [4].

В настоящее время описан ряд внутриклеточных сигнальных процессов, участвующих в регуляции запуска апоптоза нейронов под влиянием пероксида водорода [10]. Однако внутриклеточные сигнальные процессы, с которыми связано защитное действие ГКТ, остаются неизвестными.

Целью исследования было изучение участия различных внутриклеточных сигнальных путей регуляции апоптоза, индуцированного пероксидом водорода в клетках SK-N-SH, в защитном действии ГКТ.

Методы

Исследовано влияние ГКТ на апоптоз и внутриклеточные сигнальные пути с участием митогенактивируемых протеинкиназ (p38MAPK), экстраклеточных регуляторных киназ (ERK), фосфатидилинозитол-3 киназы (PI-3K) и c-Jun-N-терминальной киназы (JNK) с использованием их селективных ингибиторов.

В работе использовали культуральную среду RPMI 1640, эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС), пропиция йодид, Hoechst 33342, NEPES, раствор Хенкса (HBSS), DMSO, нитросиний тетразолий (НСТ), пенициллин, стрептомицин, фосфатный буфер (PBS), SB203580 (ингибитор p38MAPK), PD98059 (ингибитор ERK), Wortmannin (ингибитор PI3K), SP600125 (ингибитор JNK; все производства Sigma, США).

Клетки SK-N-SH выращивали в среде RPMI 1640 с 10% ЭТС, 2 мМ L-глутамин, 1% стрептомицина, 100 ед. пенициллина при 37 °С и 5% CO₂. За 48 ч до добавления ГКТ клетки собирали центрифугированием, определяли

их число. Затем клетки помещали в 24-луночные планшеты по 200 тыс. клеток на лунку в 1 мл 10% культуральной среды. За 24 ч до добавления ГКТ у клеток заменяли 10% культуральную среду на субстрат без ЭТС. После культивирования экспериментальных проб в течение 24 ч к клеткам добавляли ГКТ, а через 1 ч в пробы добавляли 100 мкМ H₂O₂. Эти пробы культивировали в течение 24 ч в CO₂-инкубаторе при 37 °С. В экспериментах с ингибиторами последние добавляли к клеткам за 30 мин до внесения ГКТ.

Апоптоз клеток регистрировали методом флуоресцентной микроскопии с использованием Hoechst 33342. Некроз клеток контролировали с помощью пропиция йодида. По окончании культивирования клетки окрашивали 30 мин в темноте с 10 мкг/мл Hoechst 33342 при 37 °С [10], затем добавляли 30 мкМ пропиция йодида. Свечение клеток регистрировали на инвертированном флуоресцентном микроскопе Keyence BZ8100 (Япония). Результаты регистрации апоптоза представлены на рисунках в процентах как доля от общего количества клеток (100%).

Образование активных форм кислорода (АФК) в клетках SK-N-SH определяли с использованием нитросинего тетразолия (НСТ). По окончании культивирования к клеткам на 2 ч при 37 °С и 5% CO₂ добавляли 0,1% НСТ. Затем клетки 2 раза отмывали PBS, фиксировали метанолом и сушили. Внутриклеточный НСТ растворялся в 240 мкл 2 М КОН и 280 мкл DMSO на лунку. Далее оптическую плотность полученного раствора измеряли при 620 нм на планшетном ридере «Униплан» [11].

Статистический анализ

Для регистрации апоптоза и некроза клеток SK-N-SH во всех экспериментах анализировали не менее 20 полей зрения, в каждом из которых находилось 200–250 клеток. Каждая проба была в четырех повторениях.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с применением программы SigmaPlot. Данные представлены в виде средних значений и стандартных отклонений. Межгрупповые различия оценивали по значению t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Обработка H₂O₂ нейронов SK-N-SH сопровождалась достоверным ($p < 0,001$) увеличением содержания радикалов кислорода в цитоплазме клеток по сравнению с контрольными необработанными клетками (рис. 1). Этот результат хорошо согласуется с данными других авторов [12]. Стимулирующий эффект пероксида водорода на фоне действия ГКТ снижался до значений генерации АФК контрольными клетками (см. рис. 1).

В следующих сериях экспериментов было изучено влияние ГКТ на клеточную гибель клеток SK-N-SH, вызываемую действием H₂O₂. На рис. 2 (А, Г) видно, что пероксид водорода увеличивал долю некротических и апоптотических клеток по сравнению с контролем (см. рис. 2 Б, Д). Численная обработка этих результатов показала, что доля некротических клеток увеличивалась до 5–10%, а доля апоптотических клеток — до 43%. При сравнении результатов апоптоза контрольных клеток (см. рис. 2 Б, Д), клеток с пероксидом водорода (см. рис. 2 А, Г), а также проб, обработанных ГКТ и пероксидом водорода и ГКТ (см. рис. 2 В, Е), хорошо видно, что ГКТ значительно снижает долю апоптотических клеток (см. рис. 2 В, Е) по сравнению с действием только одного пероксида водорода (см. рис. 2 А, Г). На рис. 3 показан

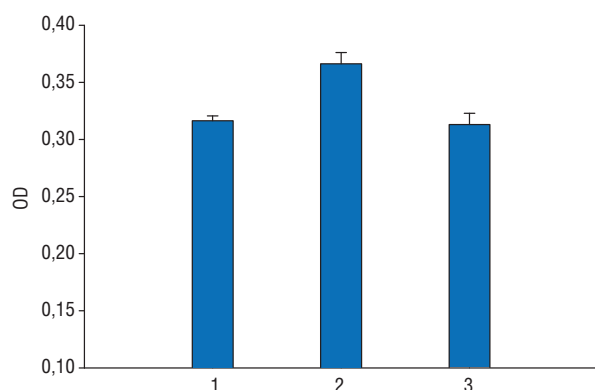


Рис. 1. Влияние гемодиализата крови телят (ГКТ) на образование активных форм кислорода в клетках SK-N-SH при действии пероксида водорода.

Примечание. 1 — контроль (без ГКТ и пероксида водорода); 2 — 100 мкМ пероксида водорода; 3 — инкубация клеток с 5 мг/мл ГКТ (1 ч), а затем — добавление 100 мкМ пероксида водорода и культивирование в течение 24 ч. OD — оптическая плотность ($n = 6, p < 0,001$).

12

ингибиторный эффект разных доз ГКТ, добавленных до воздействия пероксида водорода, который не оказывал значительного влияния на величину апоптоза клеток в отсутствие пероксида водорода. При добавлении пероксида водорода на фоне действия ГКТ происходило снижение интенсивности апоптоза этих клеток с 43 до 17% по сравнению с таковой в присутствии одного H₂O₂ (см. рис. 3). Достоверный ($p < 0,001$) защитный эффект ГКТ наблюдался уже в дозе 1 мг/мл, а максимальная защита была зарегистрирована на дозах 5 и 10 мг/мл (см. рис. 3).

Следует отметить, что добавление одного ГКТ или ГКТ вместе с ингибиторами соответствующих протеин-

киназ не изменяло долю клеток, подвергшихся апоптозу, по сравнению с контрольными клетками (рис. 4, столбики а и б). В то же время на фоне действия H₂O₂ доля апоптотных клеток резко возрастала (см. рис. 4, контрольные клетки (КС), столбик в). Если до пероксида к клеткам добавляли ингибиторы разных протеинкиназ, то все они в разной степени снижали защитный эффект ГКТ. Однако некоторые ингибиторы полностью отменяли защитное действие ГКТ (SB203580 — ингибитор p38МАРК, Wortmannin — ингибитор PI-3К), в то время как другие ингибиторы (PD98059 — подавляет активность ERK-киназы, SP600125 — ингибитор JNK-киназы) блокировали защитный эффект ГКТ только частично. На основании этих результатов было предположено, что защитный эффект ГКТ обусловлен главным образом его влиянием на две ключевые протеинкиназы — PI-3К и p38МАРК.

Таким образом, все изученные протеинкиназы участвуют в регуляции апоптоза, активированного пероксидом водорода, однако только ингибиторы p38МАРК и PI-3К блокируют защитный эффект ГКТ полностью (рис. 5).

Обсуждение

Болезнь Альцгеймера и другие нейродегенеративные заболевания характеризуются когнитивными нарушениями, которые наступают в результате гибели нейронов по механизму апоптоза. В настоящее время, к примеру, известно, что в патогенезе болезни Альцгеймера ключевую роль играет оксидативный стресс, индуцированный амилоидным пептидом Аβ [13]. Этот процесс относится к наиболее ранним процессам в патогенезе болезни Альцгеймера. Важно отметить, что воздействие β-амилоидных пептидов также вызывает увеличение образования АФК нейронами и клетками микроглии. Известно, что АФК участвуют в повреждениях нейронов при

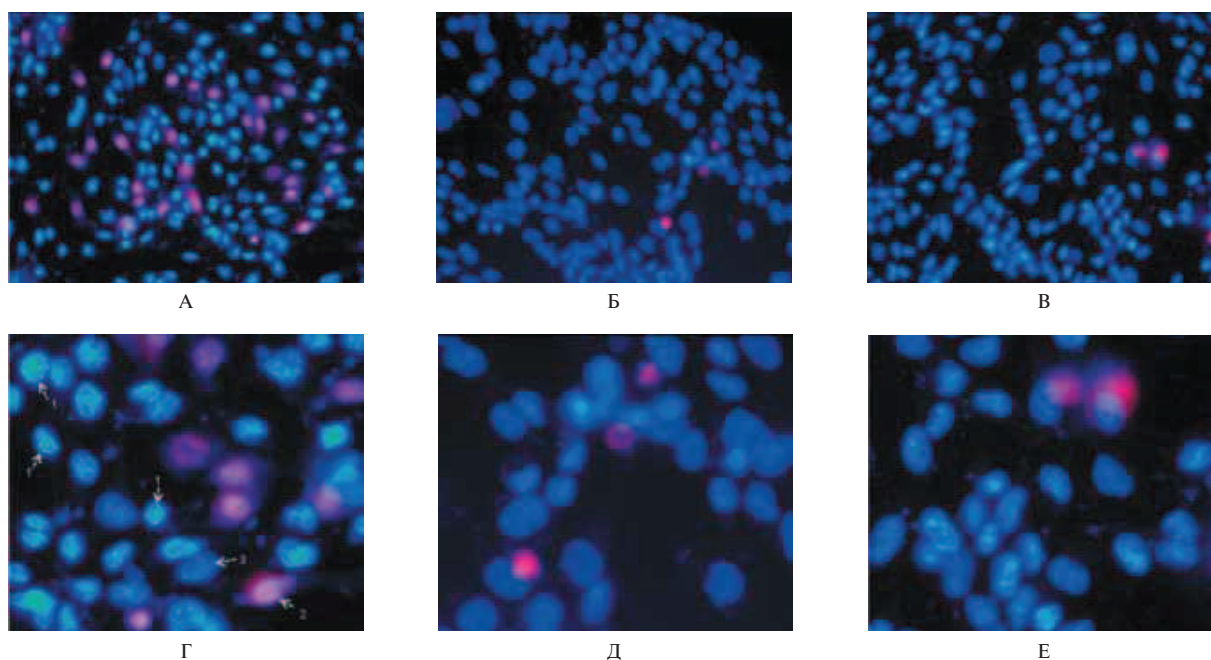


Рис. 2. Действие 5 мг/мл гемодиализата крови телят (ГКТ) и 100 мкМ пероксида водорода на клетки SK-N-SH. Клетки окрашены флуоресцентными зондами Hoechst 33342 (10 мкг/мл) и 30 мкМ пропидия йодида.

Примечание. А, Г — клетки, обработанные пероксидом водорода; Б, Д — контрольные клетки; В, Е — клетки, обработанные ГКТ и пероксидом водорода. Г, Д, Е — увеличенные фрагменты А, Б, В, соответственно.

других нейродегенеративных заболеваниях [5]. Наряду с провоспалительными цитокинами (фактор некроза опухоли α и др.), клетки микроглии продуцируют H_2O_2 , который является одним из сильнейших индукторов апоптоза в нейронах и других типах клеток [7, 8]. Полученные нами результаты показывают, что ГКТ практически полностью ингибировал образование АФК в клетках нейробластомы под действием пероксида водорода. В то же время защита клеток ГКТ от апоптоза активирующего действия пероксидом водорода была неполной. Это свидетельствует о том, что одним из механизмов защиты клеток ГКТ от пероксидиндуцированной клеточной гибели является воздействие ГКТ на механизмы активации образования АФК в клетках. В этих процессах в клетках особое место отводится НАДФН-оксидазе, активация которой приводит к образованию АФК. В механизмах активации НАДФН-оксидазы важная роль принадлежит различным протеинкиназам, в т.ч. р38МАРК, PI-3K, JNK и другим механизмам. Эти ферменты также принимают участие в регуляции апоптоза в разных типах клеток. Ранее в ряде работ было показано, что в механизме апоптоза, индуцированного пероксидом водорода в нейронах, локализованных в разных отделах мозга, а также в клетках нейробластомы, принимают участие различные внутриклеточные сигнальные пути, в т.ч. связанные с протеинкиназами р38МАРК, PI-3K, JNK, ERK [14, 15].

Защитное действие ГКТ на клетки нейробластомы при действии пероксида водорода реализуется путем снижения содержания АФК в клетках, а также путем воздействия ГКТ на различные механизмы регуляции апоптоза клеток нейробластомы. Важно отметить, что сам ГКТ практически не влияет на апоптоз и некроз клеток SK-N-SH и в достаточно высоких дозах не вызывает увеличения продукции АФК этими клетками. В присутствии ингибиторов ГКТ также практически не влияет на апоптоз этих клеток. Значительное действие ГКТ оказывает на апоптоз клеток нейробластомы, индуцированный пероксидом в присутствии и отсутствии ингибиторов. Полученные результаты говорят о том, что ключевую роль в активации апоптоза клеток под действием пероксида водорода играют сигнальные пути с участием MEK, ERK, JNK, р38МАРК, PI-3K, что не исключает участия других внутриклеточных механизмов в защите ГКТ клеток нейробластомы SK-N-SH от действия пероксида водорода.

Заключение

Нейродегенеративные заболевания занимают третье в мире место в качестве причины потери трудоспособности и смерти, обусловленной поражением ЦНС. Поиск новых подходов для защиты нейронов при этих заболеваниях имеет важное не только теоретическое, но и практическое значение. Один из таких подходов может быть связан с использованием Актовегина — безбелкового гемодиализата крови телят, применение которого в течение многих лет в лечебной практике не продемонстрировало серьезных побочных эффектов.

Конфликт интересов

Е.И. Асташкин читает лекции для ООО «Такеда Фармасьютикалс».

Остальные авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить

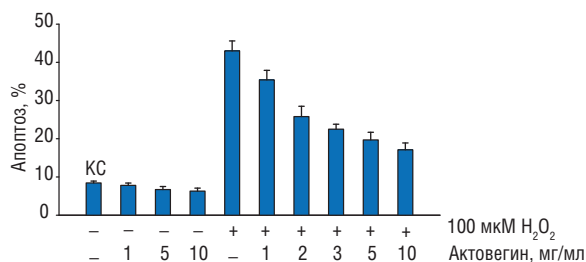


Рис. 3. Действие ГКТ на апоптоз клеток нейробластомы человека SK-N-SH, индуцированный пероксидом водорода.

Примечание. KC — культуральная среда. ГКТ — в концентрации от 1 до 10 мг/мл. Препарат добавляли в указанных концентрациях за 60 мин до добавления H_2O_2 . Сравнивали между собой действие H_2O_2 с результатами действия пероксида водорода после ГКТ ($n=6, p < 0,001$).

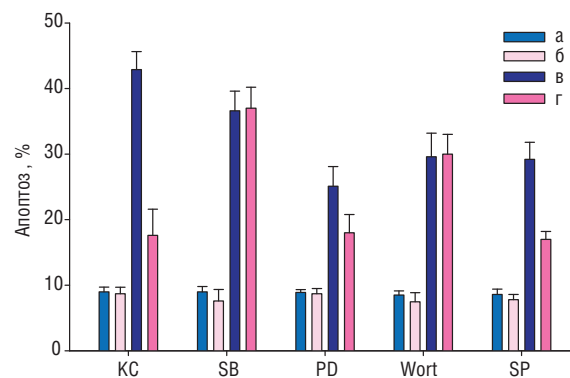


Рис. 4. Действие ГКТ (5 мг/мл), пероксида водорода (100 мкМ) и различных ингибиторов на апоптоз клеток нейробластомы человека SK-N-SH.

Примечание. ГКТ — гемодиализат крови телят; KC — культуральная среда; SB — 30 мкМ SB203580 (ингибитор р38МАРК); PD — 50 мкМ PD98059 (ингибитор ERK); Wort — 100 нМ Wortmannin (ингибитор PI-3K); SP — 10 мкМ SP600125 (ингибитор JNK). Обозначения столбиков: а — клетки без H_2O_2 и ГКТ; б — клетки без H_2O_2 и с 5 мг/мл ГКТ; в — клетки с 100 мкМ H_2O_2 без ГКТ; г — клетки с 5 мг/мл ГКТ и 100 мкМ H_2O_2 ($n=8, p < 0,001$).

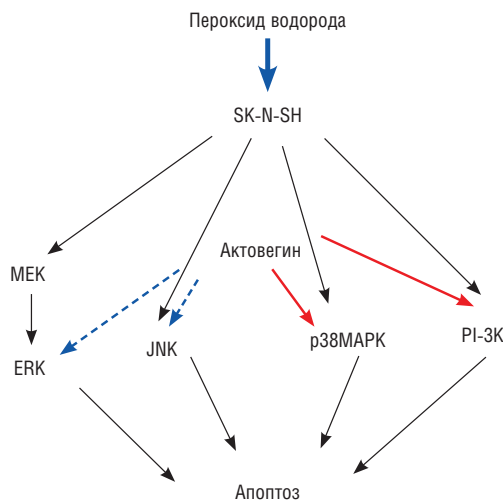


Рис. 5. Схема влияния гемодиализата крови телят на механизмы регуляции апоптоза клеток нейробластомы при действии пероксида водорода.

ЛИТЕРАТУРА

- Buchmayer F., Pleiner J., Elmlinger M.W., Lauer G., Nell G., Sitte H.H. Actovegin: a biological drug for more than 5 decades. *Wien. Med. Wochenschr.* 2011; 161 (3–4): 80–88.
- Saeidnia S., Abdollahi M. Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013; 273 (3): 442–455.
- Neumann J., Sauerzweig S., Röncke R., Gunzer F., Dinkel K., Ullrich O., Gunzer M., Reymann K.G. Microglia cells protect neurons by direct engulfment of invading neutrophil granulocytes: a new mechanism of CNS immune privilege. *J. Neurosci.* 2008; 28 (23): 5965–5975.
- Асташкин Е.И., Глезер М.Г., Винокуров М.Г., Егорова Н.Д., Орехова Н.С., Новикова А.Н., Грачев С.В., Юринская М.Н., Соболев К.Э. Актовегин снижает уровень радикалов кислорода в образцах цельной крови пациентов с сердечной недостаточностью и подавляет развитие некроза перевиваемых нейронов человека линии SK-N-SH. *Доклады Академии наук.* 2013; 448 (2): 232–235.
- Butterfield D.A., Swomley A.M., Sultana R. Amyloid β -peptide (1–42)-induced oxidative stress in Alzheimer disease: importance in disease pathogenesis and progression. *Antioxid. Redox Signal.* 2013; 19 (8): 823–835.
- Elmlinger M.W., Kriebel M., Ziegler D. Neuroprotective and anti-oxidative effects of the hemodialysate actovegin on primary rat neurons in vitro. *Neuromolec. Med.* 2011; 13 (4): 266–274.
- Cui W., Li W., Zhao Y., Mak S., Gao Y., Luo J., Zhang H., Liu Y., Carlier P.R., Rong J., Han Y. Preventing H_2O_2 -induced apoptosis in cerebellar granule neurons by regulating the VEGFR-2/Akt signaling pathway using a novel dimeric antiacetylcholinesterase bis(12)-hupryridone. *Brain Res.* 2011; 1394: 14–23.
- Zhao Z.Y., Luan P., Huang S.X., Xiao S.H., Zhao J., Zhang B., Gu B.B., Pi R.B., Liu J. Edaravone protects HT22 neurons from H_2O_2 -induced apoptosis by inhibiting the MAPK signaling pathway. *CNS Neuroscience & Ther.* 2013; 19 (3): 163–169.
- Hyslop P.A., Zhang Z., Pearson D.V., Phebus L.A. Measurement of striatal H_2O_2 by microdialysis following global forebrain ischemia and reperfusion in the rat: correlation with the cytotoxic potential of H_2O_2 in vitro. *Brain Res.* 1995; 671 (2): 181–186.
- Peng Y., Hu Y., Feng N., Wang L., Wang X. L-3-n-butyl-phthalide alleviates hydrogen peroxide-induced apoptosis by PKC pathway in human neuroblastoma SK-N-SH cells. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2011; 383 (1): 91–99.
- Wang X., Hu D., Zhang L., Lian G., Zhao S., Wang C., Yin J., Wu C., Yang J. Gomisin A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in N9 microglia via blocking the NF- κ B/MAPKs pathway. *Food Chem. Toxicol.* 2014; 63: 119–127.
- Ezoulin M.J., Ombetta J.E., Dutertre-Catella H., Warnet J.M., Massicot F. Antioxidative properties of galantamine on neuronal damage induced by hydrogen peroxide in SK-N-SH cells. *Neurotoxicology.* 2008; 29 (2): 270–277.
- Jovanović Z. Mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Med. Pregl.* 2012; 65 (7–8): 301–307.
- Kwon S.H., Hong S.I., Jung Y.H., Kim M.J., Kim S.Y., Kim H.C., Lee S.Y., Jang C.G. Lonicera japonica THUNB. Protects 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity by inhibiting activation of MAPKs, PI3K/Akt, and NF- κ B in SH-SY5Y cells. *Food Chem. Toxicol.* 2012; 50 (3–4): 797–807.
- Filomeni G., Piccirillo S., Rotilio G., Ciriolo M.R. p38(MAPK) and ERK1/2 dictate cell death/survival response to different oxidant stimuli via p53 and Nrf2 in neuroblastoma cells SH-SY5Y. *Biochem. Pharmacol.* 2012; 83 (10): 1349–1357.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Юринская Марина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экстремальных состояний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ведущий научный сотрудник Института биофизики клетки РАН

Адрес: 142290, Московская обл., Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (4967) 73-26-83, **e-mail:** marinayurin@mail.ru

Винокуров Максим Григорьевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экстремальных состояний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, заведующий лабораторией регуляции апоптоза Института биофизики клетки РАН

Адрес: 142290, Московская обл., Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (4967) 73-26-83, **e-mail:** mgvinokurov@rambler.ru

Асташкин Евгений Иванович, доктор биологических наук, профессор кафедры патологии, заведующий лабораторией экстремальных состояний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 622-96-01, **e-mail:** 287ast@mail.ru

Грачев Сергей Витальевич, доктор медицинских наук, академик РАН, заведующий кафедрой патологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 248-31-22, **e-mail:** grachevscience@gmail.com

Орехова Наталья Стефановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экстремальных состояний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 622-96-01

Новикова Антонина Николаевна, лаборант-исследователь лаборатории экстремальных состояний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 622-96-01

Соколова Ирина Николаевна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования и рациональной фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая д. 8, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 972-96-12, **e-mail:** 287ast@mail.ru