

УДК 616.8-056.7+616.831-009.12

DOI: 10.18384/2310-7189-2016-4-47-56

МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ВНУТРИОРГАННОЙ СРЕДЫ ПРИ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ 2 ТИПА В ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

Соколова М.Г.¹, Лобзин С.В.¹, Пеннийянен В.А.², Кипенко А.В.², Лопатина Е.В.², Резванцев М.В.³

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова 191016, г. Санкт-Петербург, пр. Пискаревский, д. 47., Российская Федерация

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6, Российская Федерация

³ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6., Российская Федерация

Аннотация. Моделирование биохимических условий внутриорганной среды при спинальной мышечной атрофии 2-го типа в органотипической культуре ткани выявило ингибирующий эффект сыворотки крови больных на рост нейритов эксплантатов. Установлено, что степень ингибирования роста нейритов спинальных ганглиев куриных эмбрионов коррелирует с показателями концентрации нейротрофинов (ФРГМ и ЦНТФ) в сыворотке крови больных СМА 2-го типа. Гиперэкспрессия нейротрофинов тормозит рост нейритов. Этот эффект можно рассматривать как фактор, способствующий дальнейшему процессу нейродегенерации в нервной ткани.

Ключевые слова: спинальная мышечная атрофия 2 типа, сыворотка крови, органотипическая культура ткани, фактор роста головного мозга (ФРГМ), цилиарный нейротрофический фактор (ЦНФ), каспаза-8, тамоксифен, нейрит-ингибирующий эффект.

MODELING BIOCHEMICAL CONDITIONS OF THE INTRAORGAN MEDIUM IN TYPE-2 SPINAL MUSCULAR ATROPHY IN THE ORGANOTYPIC TISSUE CULTURE

M. Sokolova¹, S. Lobzin¹, V. Penniyaynen², A. Kipenko², E. Lopatina², M. Rezvantsev³

¹ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov Piskarevsky pr. 47, 195067 St. Petersburg, Russia

² Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences nab. Makarova 6, 199034 St. Petersburg, Russia

³ S.M. Kirov Military Medical Academy ul. Akad. Lebedeva 6, 194044 St. Petersburg, Russia

Abstract. Modelling biochemical conditions of the intraorgan medium in type-2 spinal muscular atrophy in the organotypic tissue culture allowed us to detect the inhibiting effect on the growth of axons of sensory ganglia in 10–12-day chicken embryos. It is shown that the degree of

© Соколова М.Г., Лобзин С.В., Пеннийянен В.А., Кипенко А.В., Лопатина Е.В., Резванцев М.В., 2016.

growth inhibition of axons of spinal ganglia in chicken embryos correlates with the parameters of neurotrophin concentration in the blood serum of patient with type-2 spinal muscle atrophy (SMA). Neurotrophins hyperexpression inhibits the growth of the axon. That effect may be seen as a factor promoting further neurodegeneration in the nervous tissue.

Key words: spinal muscle atrophy of type 2 (SMA), blood serum, organotypic culture, brain derived neurotrophic factor (BDNF), ciliary neurotrophic factor (CNTF), tamoxifen, caspase 8, neurite-inhibitory effect.

Спинальная мышечная атрофия (СМА) 2 типа – аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся дегенеративным изменением альфамотонейронов передних рогов спинного мозга. Заболевание проявляется слабостью проксимальной мускулатуры, парезами, дыхательной недостаточностью и ранней смертностью [4, с. 345]. Изучение биохимических процессов на органном уровне позволяет уточнить патогенез и выявить факторы, способствующие прогрессированию неизлечимого заболевания.

Органые культуры применяют для изучения механизмов роста и дифференцировки клеток, гистогенеза, межклеточных и межтканевых взаимодействий, а также изучения способов сохранения жизнеспособности изолированных органов, предназначенных для трансплантации [2, с. 183]. Преимуществом метода органотипической культуры ткани является возможность оценить влияние тестируемых биологически активных веществ и воздействий на развитие клеточного сообщества, составляющего определенную ткань, сохраняя при этом характерную для данного органа цитоархитектонику и «иерархию» клеточного соподчинения. Это позволяет в условиях *in vitro* исследовать клеточные и молекулярные механизмы патологических состояний, роста и дифференцировки клеток в так называемом

«чистом виде», т.е. исключив нервные и гуморальные влияния [7, с. 175].

К настоящему времени хорошо изучены процессы, протекающие при культивировании спинальных ганглиев: распластывание эксплантатов, морфологическая и функциональная дифференцировка нейронов, рост отростков, пролиферация и миграция глиии, гистохимические отличия нервных клеток в культуре и *in vivo* [8, с. 426]. За последние десятилетия открыто большое количество биологически активных субстанций, которые в физиологических условиях способны влиять на активность роста аксонов, ветвления дендритов и стимулировать дифференцировку нейронов [13; 14]. Прежде всего – это нейротрофические факторы: фактор роста головного мозга (ФРГМ) и циллиарный нейротрофический фактор (ЦНТФ). ФРГМ участвует в дифференцировке нейронов, созревании и формировании синапсов [10; 12; 15]. ЦНТФ относится к семейству нейропоэтических цитокинов и рассматривается как ключевой фактор дифференцировки развивающихся нейронов и глиальных клеток [11].

Гибель α -мотонейронов при СМА 2 типа происходит путем апоптоза. Известно, что существуют два основных пути апоптоза в клетке: митохондриальный путь и путь через активацию рецепторов смерти, вследствие запуска

каспазного каскада [5]. Изучение в органотипической культуре ткани роли нейротрофинов и белков участвующих в активации каспазного каскада помогут уточнить патогенез СМА 2 типа.

Материал и методы

Было обследовано 18 больных СМА 2 типа в возрасте 8–15 лет (5 девочек и 7 мальчиков). Клинико-генетическая характеристика: нарушения в двигательной сфере у больных СМА 2 типа проявлялись с рождения. Молекулярно-генетическое исследование подтверждало диагноз СМА 2 типа с выявлением дефекта на длинном плече 5-ой хромосомы (в интервале между D5S629 и D5S557). Контрольную группу составляли 30 здоровых детей (12 девочек и 18 мальчиков).

Определение уровня ФРГМ, ЦНТФ и каспазы-8 проводили иммуноферментным методом в образцах сыворотки крови с использованием коммерческих иммуноферментных наборов фирмы RayBiotech Inc. и фирмы eBioscience Inc. в соответствии с инструкциями производителя. Пороговые величины определения: ФРГМ – 20 пг/мл; ЦНТФ – 8 пг/мл; каспазы-8 – 0,10 нг/мл.

Исследование влияния сыворотки крови больных СМА 2 типа на рост нейритов проведено на 800 эксплантатов спинальных ганглиев 10–12 дневных куриных эмбрионов, в качестве контрольных эксплантатов использовали 300 спинальных ганглиев. Эксплантаты культивировали в CO_2 -инкубаторе (Sanyo) в течение 3-х суток на подложках из коллагена в чашках Петри при $36,5^\circ\text{C}$ и $5\% \text{CO}_2$ в условиях стандартного содержания [1; 9,

с. 3–42]. В экспериментальных чашках в культуральную среду добавляли сыворотку крови больных СМА 2 типа в различном диапазоне разведений. На втором этапе эксперимента в исследуемые эксплантаты добавляли ингибитор протеинкиназы С – тамоксифен (tamoxifen) (10^{-5}M) («Sigma», США).

Для количественной оценки роста эксплантатов применяли морфометрический метод. Индекс площади (ИП) рассчитывали как отношение площади всего эксплантата, включая зону роста, к исходной площади [8, с. 126]. Контрольное значение ИП принимали за 100%.

Для визуализации объектов использовали микроскоп Axiostar Plus (CarlZeiss, Германия). Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

В ходе исследования применяли различные методы статистического анализа: определение критерия Шапиро–Уилка; оценка статистической значимости различия количественного показателя в двух группах с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U Test); непараметрический дисперсионный анализ с оценкой критерия Крускала–Уоллиса (Kruskal–Wallis ANOVA by Ranks). Описание количественных признаков выполнено с использованием медианы 25% и 75% перцентилей. Нулевая статистическая гипотеза отвергалась при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета STATISTICA 8.0 (StatSoft® Inc., USA).

Результаты и их обсуждение

В ранее проведенной серии опытов в органотипической культуре ткани в присутствии сыворотки крови больных СМА 2 типа был выявлен ингибирующий эффект на рост нейритов спинозных ганглиев в разведении сыворотки 1:70 [6]. Вследствие этого дальнейшее изучение сыворотки больных СМА 2 типа проводилось в разведении 1:70. Для уточнения механизма ингибирования роста нейритов в органотипической культуре ткани к исследуемым эксплантатам добавляли ингибитор протеинкиназы С тамоксифен (tamoxifen) (10^{-5} М), присутствие которого устраняло нейритингибирующий эффект плазмы. Индекс площади экспериментальных эксплантатов практически не отличался от контрольного значения.

Лабораторные исследования сыворотки крови больных СМА 2 типа выявили, что концентрация ФРГМ (36653 ± 3606 пг/мл) в сыворотке крови больных СМА 2 типа статистически значимо ($p < 0,05$) и выше, чем в контрольной группе (27313 ± 7260 пг/мл). Изучение разброса данного показателя выявило, что концентрация ФРГМ в сыворотке крови контрольной группы находится в диапазоне от 16040 пг/мл до 41960 пг/мл, а у больных СМА 2 типа – от 22523 пг/мл до 63700 пг/мл.

Анализ результатов ЦНТФ в сыворотке крови не обнаружил наличия статистически значимого различия между контрольной и исследуемой группой ($23,0 \pm 14,3$ пг/мл против $21,3 \pm 13,2$ пг/мл соответственно). Диапазон значений ЦНТФ находился в контрольной группе в интервале от 1,1

до 62,9 пг/мл), у больных СМА 2 типа – от 3,1 до 49,7 пг/мл.

Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что концентрация каспазы-8 в сыворотке крови больных СМА 2 типа составляет 0,26 [0,18; 0,42] при разбросе показателя от 0,11 до 0,80 нг/мл, что статистически значимо ($p < 0,001$), выше, чем в контрольной группе – 0,0 [0,0; 0,4] нг/мл.

В ранее проведенном исследовании нами было отмечено, что имеет место корреляционная связь между концентрацией ФРН в сыворотке крови больных СМА и ИП [3, с. 119–131]. Было показано наличие статистически значимой ($p < 0,001$) сильной обратной (Spearman $R = -0,90$) корреляционной связи. В данном исследовании мы провели корреляционный анализ между показателями ФРГМ и ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА 2 типа и ИП. Для оценки характера статистической связи между концентрацией ФРГМ в сыворотке крови больных СМА и ИП было проведено вычисление непараметрического коэффициента корреляции Спирмена, который показал наличие статистически значимой ($p < 0,001$) сильной обратной (Spearman $R = -0,94$) корреляционной связи между признаками. Характер корреляционного поля на диаграмме рассеяния позволил предположить наличие линейного участка зависимости между количеством ФРГМ в сыворотке крови больных СМА и ИП в интервале концентраций от 0 до 1500 пг/мл, что и было подтверждено (см. рис. 1) при построении дополнительной диаграммы рассеяния для данного интервала концентрации ФРГМ.

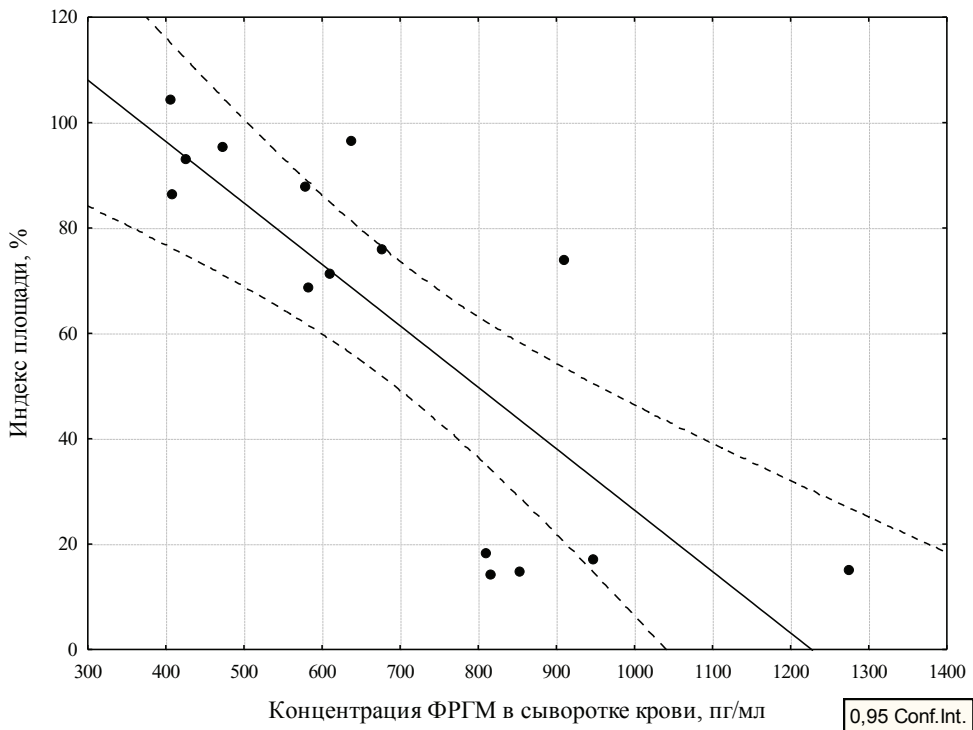


Рис. 1. Графическая оценка связи между концентрацией ФРГМ в сыворотке крови больных СМА в интервале от 0 до 1500 пг/мл и ИП.

Количественная оценка линейной связи показала наличие статистически значимой ($p < 0,001$) сильной обратной (коэффициент корреляции Пирсона $r = -0,80$) корреляционной связи между содержанием ФРГМ в сыворотке крови больных СМА и ИП в диапазоне концентраций от 0 до 1500 пг/мл. По аналогичной методике была проанализирована связь между концентрацией ЦНТФ в сыворотке крови у больных СМА и ИП. Характер корреляционного поля свидетельствует о наличии нелинейной отрицательной корреляционной связи между признаками.

Количественная оценка, проведенная с использованием непараметри-

ческого коэффициента корреляции Спирмена, показала наличие статистически значимой ($p < 0,001$) сильной обратной (Spearman $R = -0,88$) корреляционной связи между признаками. При значениях концентрации ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА более 1 пг/мл индекс площади стремится к минимальным значениям. В случае снижения концентрации ЦНТФ менее 0,5 пг/мл наблюдается рост значения показателя ИП. Построение диаграммы рассеяния (рис. 2) для интервала концентрации ЦНТФ от 0 до 0,5 пг/мл подтвердило гипотезу о наличии линейного участка для связи указанных признаков.

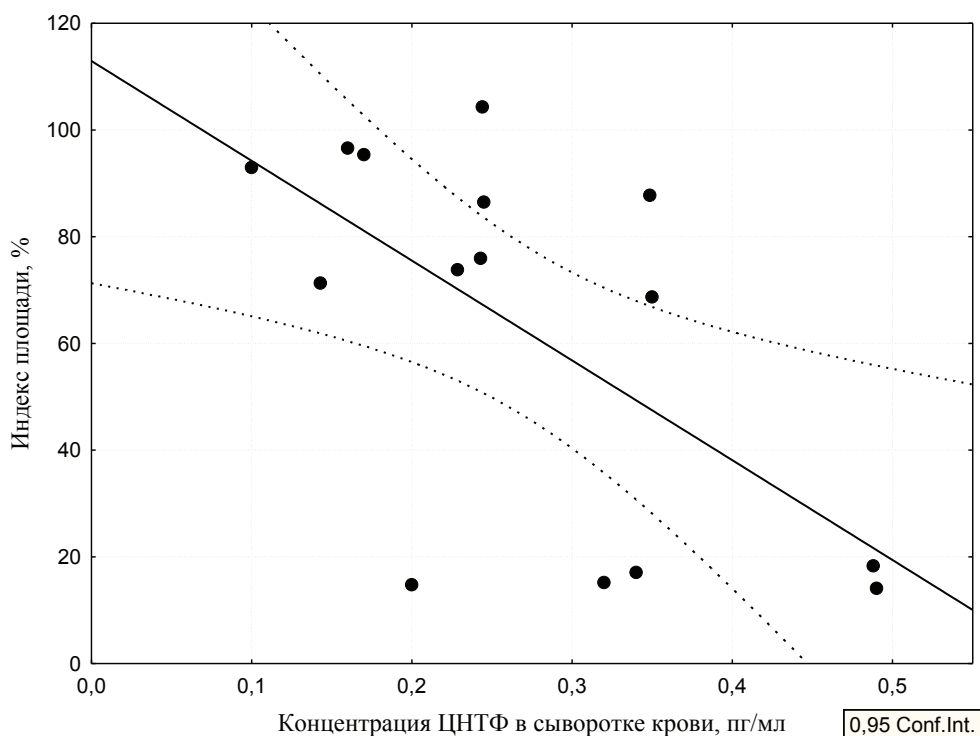


Рис. 2. Графическая оценка связи между концентрацией ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА в интервале от 0 до 0,5 пг/мл и ИП.

Количественная оценка линейной связи показала наличие статистически значимой ($p=0,014$) сильной обратной (коэффициент корреляции Пирсона $r=-0,62$) корреляционной связи между содержанием ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА и ИП в диапазоне концентраций от 0 до 0,5 пг/мл. Таким образом, выявлено, что степень ингибирования роста нейритов спинальных ганглиев куриных эмбрионов коррелирует с показателями концентрации ФРГМ и ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА 2 типа.

Проведенное нами исследование показало, что у больных СМА 2 определяется высокая активность протеолитического фермента – каспазы-8, подтверждающая участие каспазы-8-

зависимого пути (caspase-8-dependant) при развитии СМА 2 типа. Также выявлена гиперэкспрессия нейротрофинов (ФРГМ и ЦНТФ), которую можно объяснить активацией процессов нейропластичности, направленных на формирование новых полисинаптических связей.

Однако в эксперименте на органо-типической культуре ткани показано, что сыворотка больных СМА 2 типа ингибирует рост нейритов сенсорных ганглиев. Выявлена сильная корреляционная связь между фактом ингибирования роста нейритов нейронов сенсорных ганглиев и концентрацией ФРГМ и ЦНТФ в сыворотке крови больных СМА 2 типа. При ингибировании протеинкиназы С, которая уча-

ствует в реализации данного каскада, в исследуемых эксплантатах тамоксифеном мы наблюдали восстановление роста нейритов исследуемых эксплантатов. Эта серия экспериментов подтверждает наше предположение, что в ингибирующем эффекте задействован мап-киназный сигнальный путь, который активизируется НТФ.

Каспаза-8 – это внутриклеточный пептид, не способный взаимодействовать с нейроном на поверхности мембраны, а скорее отражает активность процесса апоптоза α -мотонейронов передних рогов спинного мозга. Так как нейротрофины способны связываться с рецептором р-75, который регулирует апоптоз, то можно рассматривать гиперэкспрессию НТФ и высокие концентрации каспазы-8, как звенья одного патологического процесса. Кроме этого повышенный уровень нейротрофинов, согласно нашим исследованиям, не приводит к восстановлению или частичной компенсации утраченной двигательной функции у больных СМА 2 типа [3, с. 119–131].

Эти данные подтверждены результатами электронейромиографического исследования больных СМА 2 типа, которые указывают на отсутствие или снижение процесса реиннервации [6]. Вследствие повышенной концентрации НТФ возможно происходит из-

лишняя стимуляция тиразинкиназных рецепторов и нарушается нормальная работа системы «нейротрофин-рецептор-лиганд» при одновременном и/или перекрестном взаимодействии ФРГМ, ФРН и ЦНТФ с несколькими типами рецепторов. С одной стороны высокие концентрации в крови НТФ могут указывать на сохранность механизмов нейропластичности у больных СМА 2 типа, с другой стороны, мы видим, что имеет место ингибирующий эффект сыворотки на рост нейритов сенсорных ганглиев.

Возможно, больные СМА 2 типа на протяжении 8-14 лет болезни утратили значительную часть популяции α -мотонейронов, вследствие чего концентрация синтезируемых клетками-мишенями НТФ значительно превышает сохраненные рецепторные тирозинкиназные площади. Гиперэкспрессия НТФ приводит к ингибирующему росту нейритов эффекту, который можно рассматривать как фактор, способствующий дальнейшему процессу нейродегенерации в нервной ткани. Таким образом, моделирование внутриорганных условий в органотипической культуре ткани показало, что в патогенезе СМА 2 типа участвуют разнообразные патологические каскады, тесно связанные между собой, приводящие к прогрессированию заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние оубаина на рост нейритов чувствительных нейронов в органотипической культуре ткани / В.А. Пеннийнен и др. // Цитология. 2003. Т. 45 (№ 5). С. 377–379.
2. Клетки / Под ред. Б. Льюин и др. М.: БИНОМ, 2010. 951с.
3. Морфологические основы патологии / Под ред. В.П. Волков. Новосибирск.: СибАК, 2015. 176 с.
4. Неврология: национальное руководство / Под ред. Е.И. Гусева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 936 с.
5. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия / Под ред. М. Бэра. М.: БИНОМ, 2013. 429 с.

6. Оценка реиннервационного процесса у больных спинальной мышечной атрофией 2 типа в комплексном клинико-экспериментальном исследовании / М.Г. Соколова и др. // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2014. Т. 6 (№ 4). С. 45–52.
7. Фрешни Р. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ, 2010. 691 с.
8. Уилсон К., Уолкер Дж. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. М.: БИНОМ, 2014. 848 с.
9. Черкасова Е.И., Брилкина А.А. Работа с культурами клеток. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского университета, 2015. 57 с.
10. Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells / A. Brunelli et al. // *Medicine and science in sports and exercise*. 2012. Vol. 44 (№ 10). P. 1871–1877.
11. Ciliary neurotrophic factor is required for motoneuron sprouting / S. Siegel et al. // *Exp. Neurol*. 2000. Vol. 166. P. 205–212.
12. Huang E.J., Reichardt L.F. Neurotrophins: Roles in neuronal development and function // *Annu. Rev. Neurosci*. 2001. Vol. 24. P. 677–736.
13. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: thirty-five years later (Nobel lecture, Dec. 8, 1986) // *Nobel Lectures: Physiology or Medicine, 1981-1990* / Ed. Jan Lindsten. Singapore: World Scientific Publishing Co., 1993. P. 349–369.
14. Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3 and glial-derived neurotrophic factor enhance angiogenesis in a tissue-engineered in vitro model / M. Blais et al. // *Tissue Engineering: Part A*. 2013. Vol. 19 (Iss. 15-16). P. 1655–1664.
15. Role of BDNF in central motor structures and motor diseases / Y.Y. He et al. // *Mol. Neurobiol*. 2013. Vol. 48 (№ 3). P. 83–93.

REFERENCES

1. Penniyainen V.A. i dr. Vliyanie ouabaina na rost neiritov chuvstvitel'nykh neuronov v organotipicheskoi kul'ture tkani [Influence of ouabain on the growth of neurites sensitive neurons in organotypic tissue culture] // *Tsitologiya*. 2003. Vol. 45 (5). pp. 377–379.
2. Lewin B. et al. (Eds) *Cells*. Boston – Toronto – London – Singapore: Jones and Bartlett Publishers, 2007.
3. *Morfologicheskie osnovy patologii* / Pod red. V.P. Volkov [Morphological basis of pathology / Ed. by V.P. Volkov]. Novosibirsk., SibAK, 2015. 176 p.
4. *Nevrologiya: natsional'noe rukovodstvo* / Pod red. E.I. Guseva [Neurology: national guidance / Ed. by E.I. Gusev]. M., GEOTAR-Media, 2009. 936 p.
5. Bähr M. (Ed.) *Neuroprotection: models, mechanisms and therapies*. Wienheim: Wiley, 2004.
6. Sokolova M.G. i dr. Otsenka reinnervatsionnogo protsesssa u bol'nykh spinal'noi myshechnoi atrofiei 2 tipa v kompleksnom kliniko-eksperimental'nom issledovanii [Assessment of the reinnervation process in patients with type-2 spinal muscular atrophy in the integrated clinical and experimental study] // *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova*. 2014. Vol. 6 (4). pp. 45–52.
7. Freshney R.I. *Culture of animal cells: A Manual of Basic Technique*. Oxford: Wiley, 2005.
8. Wilson K., Walker G. (Eds) *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2010. 769 p.
9. Cherkasova E.I., Brilkina A.A. *Rabota s kul'turami kletok* [Working with cell cultures]. Nizhny Novgorod, Izd-vo Nizhegorodskogo universiteta, 2015. 57 p.
10. Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells / A. Brunelli et al. // *Medicine and science in sports and exercise*. 2012. Vol. 44 (№ 10). P. 1871–1877.

- 11 Ciliary neurotrophic factor is required for motoneuron sprouting / S. Siegel et al. // *Exp. Neurol.* 2000. Vol. 166. P. 205–212.
- 12 Huang E.J., Reichardt L.F. Neurotrophins: Roles in neuronal development and function // *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. Vol. 24. P. 677–736.
- 13 Levi-Montalchini R. The nerve growth factor: thirty-five years later (Nobel lecture, Dec. 8, 1986) // *Nobel Lectures: Physiology or Medicine, 1981-1990* / Ed. Jan Lindsten. Singapore: World Scientific Publishing Co., 1993. P. 349–369.
- 14 Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3 and glial-derived neurotrophic factor enhance angiogenesis in a tissue-engineered in vitro model / M. Blais et al. // *Tissue Engineering: Part A.* 2013. Vol. 19 (Iss. 15-16). P. 1655–1664.
- 15 Role of BDNF in central motor structures and motor diseases / Y.Y. He et al. // *Mol. Neurobiol.* 2013. Vol. 48 (№ 3). P. 83–93.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Соколова Мария Георгиевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова;
e-mail: sokolova.m08@mail.ru

Лобзин Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии им. акад. С.Н. Давиденкова Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова;
e-mail: lobzin@szgmu.ru

Пеннийянен Валентина Альбертовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»;
e-mail: pvlentina2@yandex.ru.

Кипенко Анна Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»;
e-mail:

Лопатина Екатерина Валентиновна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН»;
e-mail: evlopatina@yandex.ru.

Резванцев Михаил Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель начальника учебно-методического отдела ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»;
e-mail: rmv_spb@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sokolova M.G. – candidate of medical sciences, associate professor of the department of Neurology named after Acad. S.N. Davidenkov at the North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;
e-mail: sokolova.m08@mail.ru

Lobzin S.V. – doctor of medical sciences, professor of the department of of Neurology named after Acad. S.N. Davidenkov at the North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;
e-mail: lobzin@szgmu.ru

Pennyaynen V.A. – candidate of biological sciences, senior researcher at Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;
e-mail: pvlentina2@yandex.ru

Kipenko A.V. – candidate of biological sciences, senior researcher at Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;
e-mail: ?????

Lopatina E.V. – doctor of medical sciences, leading researcher at Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;
e-mail: evlopatina@yandex.ru

Rezvantsev M.V. – candidate of medical sciences, associate professor, deputy chief of the Educational-Methodical Department at S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
e-mail: rmvnb@mail.ru

БИБЛИОГРАФИЧЕСКАЯ ССЫЛКА

Соколова М.Г., Лобзин С.В., Пеннияйнен В.А., Кипенко А.В., Лопатина Е.В., Резванцев М.В. Моделирование биохимических условий внутриорганной среды при спинальной мышечной атрофии 2 типа в органотипической культуре ткани // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2016. № 4. С. 47–56.

DOI: 10.18384/2310-7189-2016-4-47-56

BIBLIOGRAPHIC REFERENCE

M. Sokolova, S. Lobzin, V. Pennyaynen, A. Kipenko, E. Lopatina, M. Rezvantsev. Modeling biochemical conditions of the intraorgan medium in type-2 spinal muscular atrophy in the organotypic tissue culture // Bulletin of Moscow State Regional University. Series: Natural sciences. 2016. no 4. Pp. 47–56.

DOI: 10.18384/2310-7189-2016-4-47-56