УДК:616-006.699

Е.О. Шамшурина [1], М.В. Улитко [2, 3], А.С. Могиленских [2], С.В. Сазонов [1, 2], С.М. Демидов [1, 2], С.А. Титова [3]

ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ И ПОЛИМОРФИЗМА КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

[1] ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2] ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[3] ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. ***Целью*** исследования стала оценка морфологических признаков клеток двух популяций, выделенных при отработке методики культивирования образца карциномы молочной железы с целью создания персонифицированной экспериментальной модели. ***Материалы и методы.*** Для работы нами использовался операционный материал карциномы молочной железы. Опухолевую ткань после подготовки инкубировали в смешанном растворе ферментов, после чего образец фильтровали и ресуспендировали в полной питательной среде, содержащей антибиотики-антимикотики. Суспензию клеток помещали в посевной флакон с питательной средой и инкубировали в CO_2 инкубаторе до образования монослоя. Смену культуральной среды осуществляли каждые 3 дня. Пересев клеточных линий проводили при достижении культурой 80-90% конфлюента один раз в 6-7 дней. Контроль за состоянием культуры проводили с помощью инвертированного микроскопа Eclipse TS100, Nikon. Для оценки морфологических параметров клетки окрашивались по Романовскому. Линейные размеры ядер и самих клеток вычислялись с помощью окулярного микрометра МОВ-1-15х и светового микроскопа Micros MC50. Микрофотографии препаратов были сделаны на микроскопе Leica DM5000 B на увеличении 400. Статистическую обработку результатов проводили, используя программы MS Exel и STATISTICA 6, для оценки значимости различий использовали критерий Манна–Уитни. ***Результаты***. В ходе культивирования клеток карциномы молочной железы на протяжении трёх пассажей в культуре идентифицировались два типа клеток — адгезивные и неадгезивные, у которых, с увеличением времени культивирования, достоверно увеличивались показатели относительной площади клеток, относительной площади ядер и ядерно-цитоплазматического соотношения. Кроме того, в этих популяциях отмечено проявление полиморфизма при увеличении времени культивирования что проявляется в увеличении доли более крупных, неправильной формы клеток на каждом последующем пассаже. ***Заключение***. В результате проведённого исследования выявлено, что для культуры клеток карциномы молочной железы характерно появление в культуре двух популяций клеток — адгезивных и неадгезивных с высокой пролиферативной активностью, которая подтверждается достоверными изменениями показателей размеров клеток, ядер, ядерно-цитоплазматического соотношения. Кроме того, в обеих популяциях наблюдается полиморфизм клеток, который сопровождается увеличением доли более крупных клеток неправильной формы в культуре с увеличением времени культивирования и числа пассажей.

Ключевые слова: карцинома молочной железы, культивирование клеток, полиморфизм, гетерогенность

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Шамшурина Елена Олеговна
elshamshurina@gmail.com
Дата поступления 26.11.2020 г.
Образец цитирования:
Шамшурина Е.О., Улитко М.В., Могиленских А.С., Сазонов С.В., Демидов С.М., Титова С.А. Проявления гетерогенности и полиморфизма клеток карциномы молочной железы при культивировании. http://vestnikural.ru/article/1145. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №3, с. 257–264, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-257-264

В настоящее время культуры опухолевых клеток являются одним из основных инструментов для оценки потенциальной эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов и разработки персонифицированных подходов к лечению онкологических заболеваний, в частности, рака молочной железы, которые основаны на получении персонифицированной культуры опухолевых клеток, что является одной из важных задач для ряда исследователей [1, 2].

Наиболее часто для изучения свойств опухолевых клеток, цитотоксического эффекта противоопухолевых препаратов и других исследований используют иммортализированные линии карцином молочной железы [3], тогда как существует острая необходимость в создании персонифицированных экспериментальных моделей, которые могут быть использованы для различных методов исследования и, в том числе, для индивидуального подбора терапевтических методик.

Учитывая морфологическую гетерогенность рака молочной железы, влияющей на ряд биологических процессов в клетках, на чувствительность опухоли к химиотерапии [4], при длительном культивировании клеток карциномы молочной железы наблюдается появление различных клеточных популяций, которые характеризуются изменением морфологических показателей [5, 6], изменением изначальных характеристик опухоли [7]. При отработке методик получения персонифицированных культур клеток необходимо учитывать условия культивирования, состав культуральной среды, которые во многом определяют рост, изменение морфологических свойств, жизнеспособность культивируемых клеток [8].

Целью работы стала оценка полиморфизма и гетерогенности клеточных популяций образца карциномы молочной железы при отработке методики культивирования с целью создания персонифицированной экспериментальной модели.

Материалы и методы

Для проведения исследования нами использовался операционный материал карциномы молочной железы, который транспортировали в лабораторию в стерильной среде (PBS и 1% раствора антибиотиков-антимикотиков).

Опухолевую ткань промывали в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) на чашке Петри и измельчали с помощью хирургического скальпеля. Фрагменты образца вновь промывали PBS, и инкубировали 50-мл пробирке, содержащей смешанный раствор ферментов 16 часов при 37°C, в атмосфере с 5% CO_2. После инкубации образец фильтровали с использованием сита для клеток 100 мкм, затем центрифугировали при 1600 об/мин в течение 10 минут. Супернатант отбрасывали и осадок промывали в фосфатно-солевом буферном растворе и вновь центрифугировали при 1600 об/мин в течение 5 минут. Затем осадок ресуспендировали в полной питательной среде, содержащей среду DMEM, 5% эмбриональной телячьей сыворотки, 1% антибиотика-антимикотика, 1% амфотерицина В, 0,1% гентамицина. Суспензию клеток помещали в посевной флакон с питательной средой Игла DMEM с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% антибиотика-антимикотика, 1% амфотерицина В, 0,1% гентамицина и инкубировали в CO_2 инкубаторе до образования монослоя.

Смену культуральной среды осуществляли каждые 3 дня.

Пересев клеточных линий проводили при достижении культурой 80–90% конфлюента один раз в 6-7 дней, вызывая дезинтеграцию монослоя 8-минутной экспозицией в растворе трипсина и версена в соотношении 1:1.

Контроль за состоянием культуры проводили с помощью инвертированного микроскопа Eclipse TS100, Nikon при увеличении ×200 и ×400 раз.

Для оценки морфологических параметров клетки окрашивались по по Романовскому.

С помощью окулярного микрометра МОВ-1-15х и светового микроскопа Micros MC50 (Австрия) вычислялись линейные размеры ядер и самих клеток при увеличении 400 по формуле:

$$t = (II-I)/\beta$$

где t — линейные размеры объекта; II-I — разность отсчётов; β — линейное увеличение объектива.

На основании этих данных высчитывалось площадь ядер и клеток. Также определялось ядерно-цитоплазматическое соотношение по формуле:

$$ЯЦО = (S\ я)/(S\ ц)$$

где ЯЦО — ядерно-цитоплазматическое отношение; S я — площадь ядра; S ц — площадь цитоплазмы.

Микрофотографии препаратов были сделаны на микроскопе Leica DM5000 B на увеличении 400.

Статистическую обработку результатов проводили, используя программы MS Exel и STATISTICA 6, для оценки значимости различий использовали критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

В ходе культивирования клеток карциномы молочной железы на протяжении трёх пассажей наблюдалась гетерогенность популяций клеток карциномы молочной железы, в частности, в культуре идентифицировались два типа клеток — адгезивные и неадгезивные.

Результаты исследования показали, что при определении относительной площади клеток наблюдается достоверное увеличение этого показателя в обеих популяциях клеток карциномы молочной железы — адгезивных и неадгезивных на протяжении трёх пассажей.

Так, данный показатель на первом пассаже (P0) в популяции неадгезивных клеток составил 0,0096±0,0003 мм², в популяции адгезивных — 0,0091±0,0001 мм². На протяжении двух последующих пассажей показатель площади клеток достоверно увеличивался в обеих популяциях и составил на втором пассаже (P1) 0,0105±0,0003 мм² у неадгезивных и 0,0101±0,0003 мм² у адгезивных соответственно и, к третьему пассажу (P2), повысился до 0,0107±0,0007 мм² в популяции неадгезивных и 0,0105±0,00009 мм² в популяции адгезивных клеток (рис. 1).

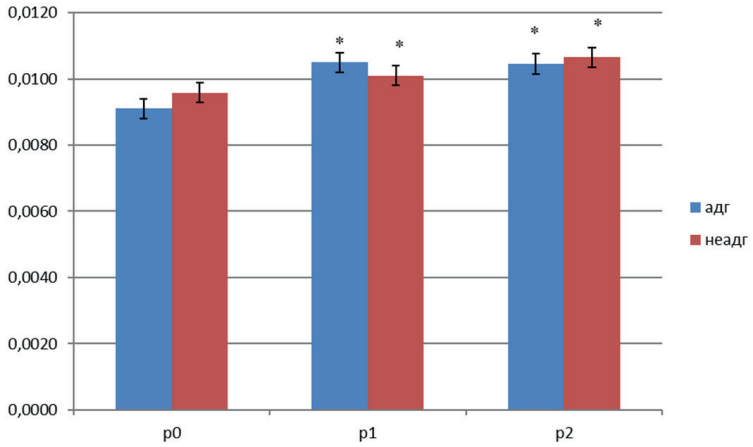


Рисунок 1. Различие популяций адгезивных и неадгезивных клеток карциномы молочной железы по показателю площади клеток между разными пассажами.

Примечание: * — различие с нулевым пассажем достоверно ($p<0,05$), на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

Figure 1. The difference in the populations of adherent and non-adherent breast carcinoma cells in terms of cell area between different passages.

Note: * — the difference with the zero passage is significant ($p<0.05$), the mean error value is plotted on the confidence intervals.

В ходе эксперимента отмечаются и изменения показателя относительной площади ядер популяций адгезивных и неадгезивных клеток.

В частности, на первом пассаже данный показатель составил 0,0036±0,00073 мм² и 0,0033±0,00020 мм² у неадгезивных и адгезивных клеток соответственно. С увеличением времени культивирования наблюдается достоверное увеличение показателя относительной площади ядер в клетках обеих популяций: так, на втором пассаже данный показатель составил 0,0051±0,00039 мм² у неадгезивных клеток и 0,0044±0,00022 мм² у адгезивных и на третьем пассаже — 0,0061±0,00026 мм² в популяции неадгезивных клеток, у адгезивных клеток — 0,0050±0,00037 мм².

По мере увеличения продолжительности культивирования клеток карциномы молочной железы также наблюдается достоверное увеличение показателя ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) как в популяции адгезивных, так и неадгезивных клеток.

Так, на первом пассаже (P0) данный показатель составил в популяции адгезивных клеток 0,40±0,0072, в популяции неадгезивных — 0,35±0,0068. При исследовании клеток последующих пассажей показатель ЯЦО адгезивных клеток составил 0,42±0,0076 и 0,49±0,0090 в популяции неадгезивных клеток на втором пассаже (P1) и, на третьем пассаже (P2), данный показатель составил 0,48±0,0089 в популяции адгезивных клеток и 0,56±0,0068 у неадгезивных соответственно (рис. 2).

При морфологическом исследовании культивируемых клеток отмечено проявление полиморфизма как в популяции адгезивных клеток, так и в популяции неадгезивных при увеличении времени культивирования, что проявляется в изменении формы и размеров клеток в культуре. Так, на каждом последующем пассаже увеличивалась доля более крупных, неправильной формы клеток (рис. 3).

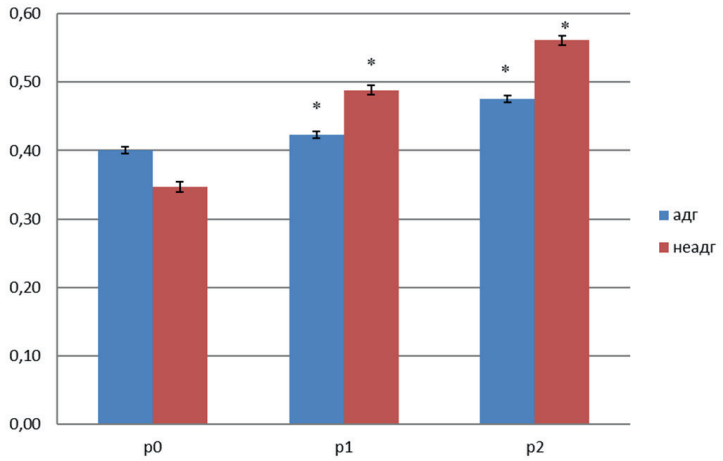


Рисунок 2. Различие показателя ЯЦО популяций адгезивных и неадгезивных клеток карциномы молочной железы между разными пассажами.

Примечание: * — различие с нулевым пассажем достоверно ($p<0,05$), на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего.

Figure 2. Difference in NCR index of adherent and non-adherent breast carcinoma cell populations between different passages.

Note: * — the difference with the zero passage is significant ($p<0.05$), the mean error value is plotted on the confidence intervals.

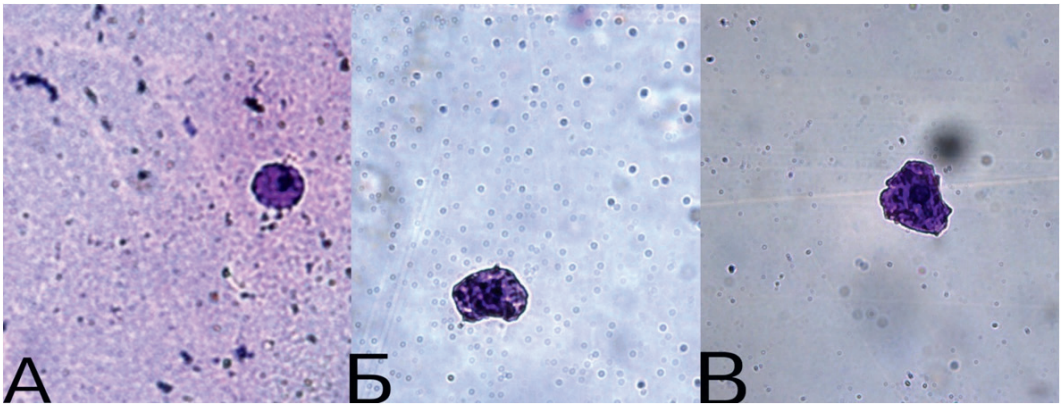


Рисунок 3. Полиморфизм клеток рака молочной железы, окашивание по Романовскому, ув. ×400: А — первый пассаж (Р0) Б — второй пассаж (Р1) В — третий пассаж (Р2)

Figure 3. Breast cancer cell polymorphism, Romanovsky mowing, ×400: A — first passage (P0), Б — second passage (P1), B — third passage (P2)

Полученные данные свидетельствуют о гетерогенности популяции клеток рака молочной железы, так как идентифицируется как минимум два типа клеток: адгезивные и неадгезивные. Отмечается и полиморфизм культивируемых клеток, который сопровождается изменением размеров и формы клеток с увеличением времени культивирования и числа пассажей.

Выводы

Таким образом, для исследуемой культуры клеток карциномы молочной железы характерна гетерогенность, проявляющаяся в появлении в культуре двух популяций клеток — адгезивных и неадгезивных. Кроме того, в обеих популяциях наблюдается полиморфизм клеток, который сопровождается увеличением доли более крупных клеток неправильной формы в культуре с увеличением времени культивирования и числа пассажей.

В обеих популяциях культивируемых клеток опухоли отмечается высокая пролиферативная активность клеток, которая подтверждается достоверными изменениями показателей пролиферативной активности клеток — размеров ядер, ЯЦО.

Следовательно, гетерогенность и тенденция к увеличению размеров клеток в культуре карциномы молочной железы должны учитываться при дальнейшем культивировании с целью создания персонифицированных экспериментальных моделей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сазонов С.В. Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М., Фадеев Ф.А. , Демидов С.М. Опыт культивирования клеток карциномы молочной железы люминального подтипа//Материалы VII межрегиональной научно-практической конференции « Клеточные технологии – практическому здравоохранению». Екатеринбург. 6 декабря 2018 г. С. 115-128
2. Шамшурина Е.О. Опыт культивирования клеток карцино-мы молочной железы тройного негативного подтипа. / Шамшурина Е. О., Могиленских А. С., Сазонов С. В., Улитко М. В, Демидов С. М., Титова С. А // Клеточные технологии – практическому здравоохранению: сборник статей VIII межрегиональной научно-практической конференции. Екатеринбург, 2019. С. 212-214.
3. Скворцова В.В. Выращивание культур опухолей в 3D-формате для исследования их ответа на лекарственное воздействие./Скворцова В.В., Полуконова Н.В., Бучарская А.Б.//Bulluten of Medical Internet Conferences (ISSN 2224-6150).- 2014. -Volume 4. – Issue 1.
4. Геращенко Т.С., Завьялова М.В. и др. Внтуриопухолевая морфлогическая гетерогенность рака молочной железы, как фактор, отражающий метастатический потенциал и чувствительность опухоли к химиотерапии/ ACTA NATURE, 2017. Том 9, №1 (32). С. 60-72
5. Могиленских А.С. Оптимизация условий культивирования первичной культуры карциномы молочной железы человека/ Могиленских А.С., Сазонов С.В., Демидов С.М.//Материалы VI Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи 2020». С-Петербург, 2020.
6. Шамшурина Е.О. Морфологический анализ культуры клеток рака молочной железы /Шамшурина Е.О., Могиленских А.С., Сазонов С.В.//Успехи молекулярной онкологии. 2019. Т. 6. №4. С.88-89.
7. Сазонов С.В. Изменение рецепторов клеток карциномы молочной железы люминального В подтипа при культивировании / Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Фадеев Ф.А., Улитко М.В. и др. //Морфология, 2019. Т. 155. №2. С. 248.
8. Галимова Э.С. Двухмерные и трёхмерные модели культуры клеток опухолей *in vitro*: преимущества и недостатки/ Галимова Э.С., Галагудза М.М. // Бюллютень сибирской медицины, 2018. 17(3). С. 188-196.

Авторы

Шамшурина Елена Олеговна

ФГ БОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии

Российская Федерация, 620028, Свердловская обл., г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

elshamshurina@gmail.com

Улитко Мария Валерьевна

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных

Российская Федерация, 620002, Уральский федеральный округ, Свердловская область, Екатеринбург, ул. Мира, 19

maria.ulitko@mail.ru

Могиленских Анна Сергеевна

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Младший научный сотрудник лаборатории клеточных культур

Российская Федерация, 620000, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, 76а

annasajler@yandex.ru

Сазонов Сергей Владимирович

ФГ БОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

Профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии

Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3

prof-ssazonov@yandex.ru

Демидов Сергей Михайлович

ФГ БОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии

Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
professordemidov@yandex.ru

Титова Светлана Андреевна
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
Магистрант кафедры физиологии человека и животных
Российская федерация, 620002, Уральский федеральный округ, Свердловская область, Екатеринбург, ул. Мира, 19
maria.ulitko@mail.ru

E.O. Shamshurina [1], M.V. Ulitko [2, 3], A.S. Mogylenskih [2], S.V. Sazonov [1, 2], S.M. Demidov [1, 2], S.A. Titova [3]

MANIFESTATIONS OF HETEROGENICITY AND POLYMORPHISM OF BREAST CARCINOMA CELLS DURING CULTIVATION

[1] Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;
[2] Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;
[3] FGAOU VO "UrFU named after the first President of Russia B.N. Yeltsin", Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. ***The aim*** of the research was assessment of morphological characteristics of cells of two populations, isolated during the development of the method of cultivating a sample of breast carcinoma in order to create a personalized experimental model. ***Materials and methods***. For our work, we used the surgical material of breast carcinoma. After preparation, tumor tissue was incubated in a mixed solution of enzymes, after which the sample was filtered and resuspended in a complete nutrient medium containing antibiotics-antimycotics. The cell suspension was placed in a seed vial with a nutrient medium and incubated in a CO_2 incubator until a monolayer was formed. The culture medium was changed every 3 days. Subculture of cell lines was performed when the culture reached 80–90% confluent once every 6–7 days. Control over the state of the culture was carried out using an Eclipse TS100 inverted microscope, Nikon. To assess morphological parameters, cells were stained according to Romanovsky. The linear dimensions of the nuclei and the cells themselves were calculated using an MOV-1-15x ocular micrometer and a Micros MC50 light microscope. Micrographs of the preparations were made on a Leica DM5000 B microscope at 400 magnification. Statistical processing of the results was carried out using the MS Excel and STATISTICA 6 programs; the Mann - Whitney test was used to assess the significance of differences. ***Results***. During the cultivation of breast carcinoma cells during three passages in the culture, two types of cells were identified – adhesive and non-adhesive, in which, with an increase in the cultivation time, the indicators of the relative cell area, the relative area of the nuclei and the nuclear-cytoplasmic ratio significantly increased. In addition, in these populations, the manifestation of polymorphism was noted with an increase in the cultivation time, which manifests itself in an increase in the proportion of larger, irregularly shaped cells at each subsequent passage. ***Conclusion***. As a result of the study, it was revealed that the culture of breast carcinoma cells is characterized by the appearance in the culture of two populations of cells — adhesive and non-adhesive with high proliferative activity, which is confirmed by significant changes in cell sizes, nuclei, nuclear-cytoplasmic ratio. In addition, cell polymorphism is observed in both populations, which is accompanied by an increase in the proportion of larger irregularly shaped cells in culture with an increase in the cultivation time and the number of passages.

Keywords: breast carcinoma, cell culture, polymorphism, heterogeneity

There is no conflict of interest.
Contact details of the corresponding author:
Elena O. Shamshurina
elshamshurina@gmail.com
Received 26.11.2020
For citation:
Shamshurina E.O., Ulitko M.V., Mogylenskih A.S., Sazonov S.V., Demidov S.M., Titova S.A. Manifestations of heterogenicity and polymorphism of breast carcinoma cells during cultivation. Url: http://vestnikural.ru/article/1145 [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 3, pp. 257–264. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-257-264 (In Russ)

REFERENCES

1. Sazonov S.V. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M., Fadeev F.A. , Demidov S.M. Experience of cultivation of breast carcinoma cells of the luminal subtype. Materials of the VII interregional scientific-practical conference «Cell technologies - practical health care». Ekaterinburg. December 6, 2018 p. 115–128.
2. Shamshurina E.O. Experience in cultivating breast carcinoma cells of the triple negative subtype. Shamshurina E.O., Mogylenskikh A.S., Sazonov S.V., Ulitko M.V., Demidov S.M., Titova S.A. Cell technologies for practical health care: collection of articles of the VIII interregional scientific-practical conference ... Yekaterinburg, 2019. pp. 212-214.
3. Skvortsova V.V. Cultivation of tumor cultures in 3D format to study their response to drug exposure. Skvortsova V.V., Polukonova N.V., Bucharskaya A.B. Bulluten of Medical Internet Conferences (ISSN 2224-6150) . 2014. Volume 4. Issue 1.
4. Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V. et al. Intratumoral morphological heterogeneity of breast cancer as a factor reflecting the metastatic potential and sensitivity of the tumor to chemotherapy. ACTA NATURE, 2017. Volume 9, No. 1 (32). pp. 60-72
5. Mogylenskikh A.S. Optimization of cultivation conditions for primary culture of human breast carcinoma. Mogylenskikh A.S., Sazonov S.V., Demidov S.M. Materials of the VI St. Petersburg International Oncological Forum «White Nights 2020». St. Petersburg, 2020.
6. Shamshurina E.O. Morphological analysis of breast cancer cell culture. Shamshurina E.O., Mogylenskikh A.S., Sazonov S.V. Advances in molecular oncology. 2019. Vol. 6. No. 4. pp. 88-89.
7. Sazonov S.V. Changes in the receptors of breast carcinoma cells of the luminal B subtype during cultivation / Sazonov S.V., Brilliant A.A., Fadeev F.A., Ulitko M.V. et al. Morphology, 2019. Vol. 155. No. 2. pp. 248.
8. Galimova E.S. Two-dimensional and three-dimensional models of in vitro tumor cell culture: advantages and disadvantages. Galimova E.S., Galagudza M.M. Bulletin of Siberian Medicine, 2018. 17 (3). pp. 188-196.

Authors

Elena O. Shamshurina
Ural State Medical University. Department of Histology, Cytology and Embryology
Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology
Russian Federation, 620028, Sverdlovsk region, Yekaterinburg, Repina st., 3
elshamshurina@gmail.com

Maria V. Ulitko
Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin
Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Human and Animal Physiology
Russian Federation, 620002, Ural Federal District, Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, st. Mira, 19
maria.ulitko@mail.ru

Anna S. Mogylenskikh
Institute of Medical Cell Technologies
Junior Researcher, Cell Culture Laboratory
Russian Federation, 620000, Sverdlovsk region, Yekaterinburg, st. Vilonova, 76a
annasajler@yandex.ru

Sergey V. Sazonov
Ural State Medical University. Department of Histology, Cytology and Embryology
Dr. Sci. (Med.), Professor, the Head of the Department of histology, cytology and embryology of Ural State Medical University,
Head of the laboratory of pathomorphology of Institute of Medical Cell Technologies
Russian Federation, 620000, Vilonova str., 76a, Yekaterinburg
prof-ssazonov@yandex.ru

Sergey M. Demidov
Ural State Medical University.
Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Oncology
Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, st. Repin, 3
professordemidov@yandex.ru

Svetlana A. Titova
Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin , Yekaterinburg. Master student of the Department of Human and Animal Physiology
Russian Federation, 620002, Ural Federal District, Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, st. Mira, 19
maria.ulitko@mail.ru

on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru