

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА (IN VITRO)

Коленчукова О.А.^{1,3}, Столяр С.В.^{2,3}, Ладыгина В.П.², Бирюкова Е.А.³

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

² Международный научный центр исследований экстремальных состояний организма ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

³ ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

Резюме. В статье описываются результаты исследования по оценке воздействия магнитных наночастиц ферригидрита на нейтрофильные гранулоциты крови человека (*in vitro*) для определения биосовместимости и экотоксичности. Объектами исследования являлись нейтрофильные гранулоциты крови, выделенные у 29 условно здоровых доноров крови и наночастицы, доза препаратов в минимальной концентрации составила 25 мг и в максимальной – 50 мг на 10⁶ клеток в 1 мл. В работе использован золь наночастиц ферригидрита, полученный биогенным синтезом в результате культивирования микроорганизмов *Klebsiella oxytoca*. Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов крови определяли с помощью люминол-зависимой хемилюминесценции. Наночастицы вносили в опытные пробы непосредственно перед хемилюминесцентным анализом, а также после инкубации в течение 30 минут при температуре 37 °С. В результате оценки раннего ответа нейтрофильных гранулоцитов на воздействие максимальной концентрации НЧ *in vitro* было обнаружено статистически достоверное уменьшение в 1,6 раза интенсивности, в 2,1 раза площади под кривой в зимозан-индуцированной хемилюминесцентной реакции, а также в 2,3 раза индекса активации. При оценке позднего ответа нейтрофильных гранулоцитов на воздействие максимальной концентрации наночастиц *in vitro* было обнаружено статистически достоверное снижение времени выхода на пик в 10 раз спонтанной хемилюминесцентной реакции, а также происходит значительное снижение максимальной интенсивности в 6 раз и в 5,6 раза снижается площадь под кривой зимозан-индуцированной хемилюминесценции при воздействии НЧ. При снижении в 3,7 раза индекса активации. Установлено, что наночастицы ферригидрита интенсивно снижают функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов. Интенсивность воздействия повышается при предварительной инкубации клеток с НЧ. При этом кратковременный эффект НЧ на нейтрофильные гранулоциты может быть модулирующим и зависит от исходного уровня реактивности клеток. Выявлено, что действие НЧ реализуется только на активированные клетки.

Ключевые слова: хемилюминесценция, люминол, нейтрофильные гранулоциты, магнитные наночастицы ферригидрита, функциональная активность

Адрес для переписки:

Коленчукова Оксана Александровна
Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (391) 228-06-83, 228-06-81, 228-06-62.
E-mail: Kalina-chyikova@mail.ru

Address for correspondence:

Kolenchukova Oksana A.
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk,
Partizan Zheleznyak str., 3g.
Phone: 7 (391) 228-06-83, 228-06-81, 228-06-62.
E-mail: Kalina-chyikova@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Коленчукова, С.В. Столяр, В.П. Ладыгина,
Е.А. Бирюкова «Хемилюминесцентная активность
нейтрофильных гранулоцитов при воздействии
магнитных наночастиц ферригидрита (*in vitro*)»
// Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 3.
С. 533-538. doi: 10.15789/1563-0625-CAO-1902
© Коленчукова О.А. и соавт., 2020

For citation:

O.A. Kolenchukova, S.V. Stolyar, V.P. Ladygina,
E.A. Biryukova "Chemiluminescence activity of neutrophil
granulocytes under the influence of magnetic nanoparticles
of ferrihydrite (*in vitro*)", *Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya*, 2020, Vol. 22, no. 3,
pp. 533-538. doi: 10.15789/1563-0625-CAO-1902
DOI: 10.15789/1563-0625-CAO-1902

CHEMILUMINESCENCE ACTIVITY OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES UNDER THE INFLUENCE OF MAGNETIC NANOPARTICLES OF FERRIHYDRITE (*IN VITRO*)

Kolenchukova O.A.^{a, c}, Stolyar S.V.^{b, c}, Ladygina V.P.^b, Biryukova E.A.^c

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b International Scientific Centre for Studying Extreme States of an Organism, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

^c Siberia Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. The article presents the results of studying and evaluating the impact of magnetic nanoparticles of ferrihydrite on neutrophil granulocytes in human blood (*in vitro*) in order to determine their bio compatibility and eco toxicity. The subject soft here search were blood neutrophil granulocytes of 29 conditionally-healthy donors of blood, as well as magnetic nanoparticles of ferrihydrite (NP), the preparation dose in minimum concentration reached 25 mg, in maximum concentration it reached 50 mg per 10⁶ cells/ml. We implemented the sol of magnetic NP, obtained by biogenic synthesis in International Scientific Centre for Studying Extreme States of an Organism. Functional activity of blood neutrophil granulocytes has been determined by luminol-dependent chemiluminescence. Magnetic NP were introduced into pilot samples straight before chemiluminescent analysis, and also after the incubation with in 30 minutes under 37 °C entigrade. As a result of thee stimation of the early response of neutrophil granulocytes to the influence of minimum concentration of magnetic NP *in vitro* we found statistically true decrease of the intensity (1.6 times), the area under the curve (2.1 times) in zymosan-induced chemiluminescent response, the activation index (2.3 times). When evaluating the late response of neutrophil granulocytes to the influence of maximum concentration of magnetic NP *in vitro* we have found statistically true lowering of the time of reaching the peak (10 times) of spontaneous chemiluminescence. More over we marked consider able lowering of maximum intensity 6 times and the reduction of the area under the curve of zymosan-induced chemiluminescence 5.6 times under the influence of magnetic NP under the lowering of activation index 3.7 times. The authors determined that magnetic NP were intensively decreasing the functional activity of neutrophil granulocytes. The intensity of the impact is higher under the preliminary incubation of the cells with magnetic NP. At the same time, short effect of magnetic NP to neutrophil granulocytes can be a modulating one and depends on the initial level of cell reactivity. We revealed that magnetic NP influence concerns only activated cells.

Keywords: chemiluminescence; luminol; neutrophil granulocytes; magnetic nanoparticles of ferrihydrite; respiratory explosion

Введение

Во всем мире растет внимание к перспективам развития нанотехнологий. Наиболее активно развивающимися направлениями nanoиндустрии являются нанобиология и наномедицина. Развитие нанотехнологий с использованием белковых, липидных молекул, нуклеиновых кислот и их синтетических аналогов дает возможность создавать новые высокочувствительные и недорогие системы для ранней диагностики и лечения, обеспечивающие пролонгированное поступление лекарственных веществ, целевую доставку в определенные органы и клетки-мишени, улучшение фармакологических свойств препарата, снижение эффективной дозы и системной токсичности [7, 10, 11].

Несмотря на существующее многообразие препаратов, продолжается поиск лекарств, отвечающих определенным параметрам: эффектив-

ность, безопасность, биодоступность, стоимость. При этом препараты наночастиц железа с их уникальными свойствами (высокая поверхностная энергия; устойчивая сорбция биомолекул; изменение физико-химических свойств под действием физических полей; малые размеры сопоставимые с биомолекулами) открывают широкие перспективы для использования наноматериалов в терапии различных заболеваний. Особое внимание уделяется биологическому синтезу железосодержащих наночастиц, что обусловлено биологической совместимостью данных объектов и возможностью управления внешним магнитным полем [7, 8]. Преимущества микроорганизмов, как потенциальных источников выделения наночастиц, заключаются в возможности управляемого наращивания их биомассы и получения наночастиц с заданными свойствами без существенных энергетических затрат [12].

Совокупность научных данных о наноматериалах указывает на то, что они относятся к новому классу продукции, и характеристика их потенциальной опасности для здоровья человека и состояния среды обитания во всех случаях является обязательной. В связи с этим изучение безопасности наноматериалов, создание методологии по оценке их биосовместимости, биодegradируемости, токсичности, разработка нормативных документов являются актуальными проблемами для мирового сообщества [3, 9].

Таким образом целью исследования является оценка воздействия магнитных наночастиц ферригидрита на нейтрофильные гранулоциты крови человека (*in vitro*) для определения их биосовместимости и экотоксичности.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись нейтрофильные гранулоциты крови, выделенные у 29 условно здоровых доноров крови и наночастицы ферригидрита (НЧ), концентрацию которых рассчитывали исходя из минимального и максимального количества железосодержащих веществ в организме человека [6]. В связи с этим доза препаратов в минимальной концентрации составила 25 мг, в максимальной – 50 мг на 10^6 клеток в 1 мл. В работе использован золь магнитных наночастиц ферригидрита, полученный из биомассы бактерий продуцентов *Klebsiella oxytoca*. Данный вид бактерии в анаэробных условиях способен синтезировать секреторный экзополисахарид, который связан с наночастицами ферригидрита [2, 13]. Использованная бактериальная культура была выделена из сапропеля озера Боровое (Красноярский край) [5, 13].

Оценку состояния здоровья доноров и забор крови осуществляли на базе Центра крови № 1. Перед процедурой забора крови донору предоставляли форму информационного согласия на участие в научно-исследовательской работе.

Респираторный взрыв нейтрофильных гранулоцитов крови определяли с помощью хемилюминесцентного анализа. Исследование спонтанной и зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) осуществляли с помощью биохемилюминесцентного анализатора “CL3606M” (СКТБ «Наука», г. Красноярск) [4]. Результаты хемилюминесцентного анализа характеризовали по следующим параметрам: время выхода на максимум интенсивности (T_{max}), максимальное значение интенсивности (I_{max}) и площадь (S) под хемилюминесцентной кривой. Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, оценивали соотношением площади индуцированной (Синд.) к площади спонтанной (Спонт.) и определяли как индекс активации (ИА) [1].

Оценку воздействия наночастиц на нейтрофильные гранулоциты (*in vitro*) проводили с помощью определения раннего и позднего хемилюминесцентного ответа.

Оценка респираторного взрыва клеток при контакте с наночастицами (ранний ответ, протокол № 1): наночастицы вносили в опытные пробы непосредственно перед хемилюминесцентным анализом в концентрациях 25 мг и 50 мг на 10^6 клеток в 1 мл. Для каждой концентрации готовили 2 кюветы для исследования спонтанной/зимозан-индуцированной реакции. Для сравнения – хемилюминесцентную активность измеряли в нейтрофильных гранулоцитах без воздействия НЧ (контроль). Далее проводили хемилюминесцентный анализ.

Оценка респираторного взрыва клеток при длительном контакте с наночастицами (поздний ответ, протокол № 2): наночастицы в концентрациях 25 мг и 50 мг на 10^6 клеток в 1 мл вносили к нейтрофильным гранулоцитам. Суспензии инкубировали в течение 30 минут при температуре 37 °С. Для каждой концентрации готовили 2 кюветы для исследования спонтанной/зимозан-индуцированной реакции. Для сравнения нейтрофильные гранулоциты инкубировали в течение 30 минут при температуре 37 °С без воздействия НЧ (контроль). Далее проводили хемилюминесцентный анализ.

Статистический анализ осуществлялся с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., 2007). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 процентилей ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Достоверность различий между показателями зависимых выборок оценивали по U-критерию Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

С помощью люминол-зависимой хемилюминесценции определяли базовую активность клеток и резервные возможности нейтрофильных гранулоцитов при воздействии на них неспецифического индуктора в виде зимозана. Исследована способность нейтрофильных гранулоцитов к образованию общего пула вторичных радикалов кислорода (H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2 , $HClO$).

При исследовании раннего хемилюминесцентного ответа нейтрофильных гранулоцитов на воздействие наночастиц *in vitro* в минимальной концентрации (25 мг на 10^6 клеток в 1 мл) не было выявлено достоверных различий с контрольной группой. Таким образом, было отмечено, что уровень респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов не изменяется при воздействии НЧ в минимальной концентрации.

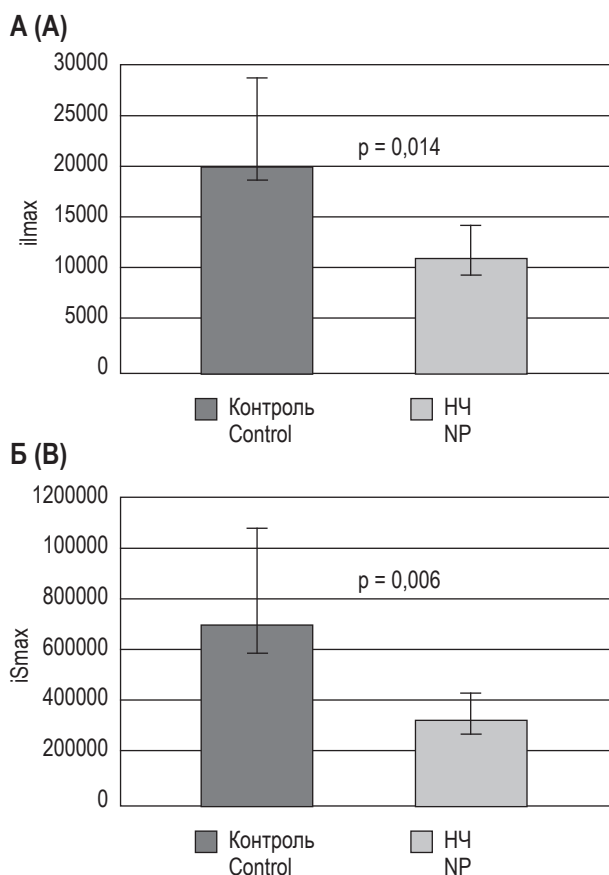


Рисунок 1. Показатели зимозан-индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов при воздействии НЧ *in vitro* (протокол № 1)

Примечание. А – максимальная интенсивность. Б – площади под кривой.

Figure 1. Results zymosan-induced chemiluminescence of neutrophil granulocytes under the influence of magnetic NP *in vitro* (protocol No. 1)

Note. A, maximum intensity. B, area.

В результате оценки раннего ответа нейтрофильных гранулоцитов на воздействие максимальной концентрации НЧ (50 мг на 10^6 клеток в 1 мл) *in vitro* было обнаружено статистически достоверное уменьшение в 1,6 раза показателей интенсивности реакции в зимозан-индуцированном процессе (рис. 1А). Также достоверно в 2,1 раза снижалась площадь под кривой хемилюминесцентной реакции, стимулированной зимозаном, относительно контроля (рис. 1Б). При определении усиленной ХЛ отмечено снижение ИА в 2,3 раза при воздействии наночастицами (рис. 2А).

При оценке позднего ответа нейтрофильных гранулоцитов на воздействие НЧ в минимальной концентрации (25 мг на 10^6 клеток в 1 мл) также не обнаружено статистически значимых результатов. При воздействии максимальной концентрации НЧ (50 мг на 10^6 клеток в 1 мл) на нейтрофильные гранулоциты *in vitro* было обнаружено

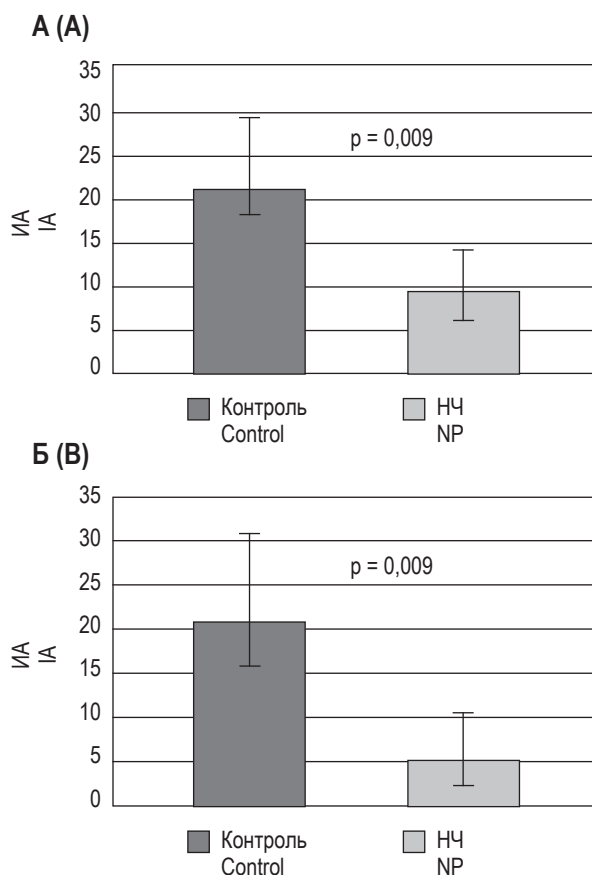


Рисунок 2. Индекс активации хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов при воздействии НЧ *in vitro*

Примечание. А – протокол № 1. Б – протокол № 2.

Figure 2. Activation index chemiluminescence of neutrophil granulocytes under the influence of magnetic NP *in vitro*

Note. A, protocol No. 1. B, protocol No. 2.

статистически достоверное снижение показателя, характеризующего время выхода на пик (в 10 раз) в спонтанной хемилюминесцентной реакции (рис. 3А), и в 6 раз – показателя максимальной интенсивности хемилюминесцентного процесса в нагрузочных тестах (рис. 3Б). Хемилюминесцентный показатель, описывающий площадь под кривой зимозан-индуцированной реакции, снижался в 5,6 раза после инкубации нейтрофильных гранулоцитов с НЧ (рис. 3В). Также при длительном воздействии НЧ *in vitro* происходило снижение в 3,7 раза ИА (рис. 2Б).

Взаимодействие наночастиц с биологическими объектами может приводить к их встраиванию в мембраны, проникновению в клетки и клеточные органеллы и даже изменять функции различных биологических структур. Все эти свойства наночастиц определяет их биокинетика и биологическая активность [7, 10].

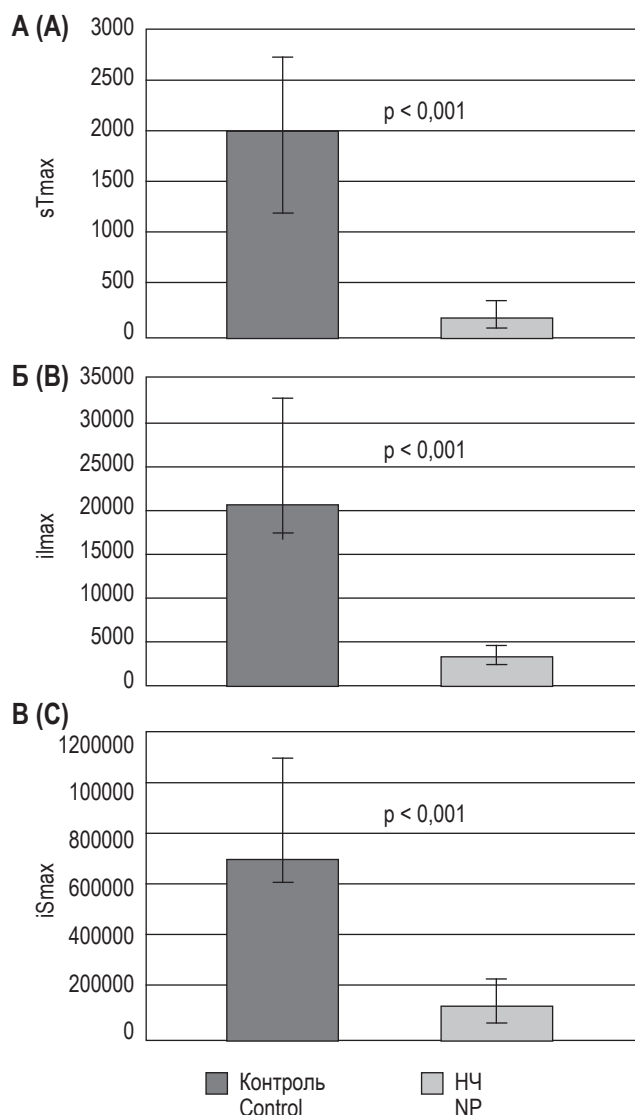


Рисунок 3. Показатели хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов при воздействии НЧ *in vitro* (протокол № 2)

Примечание. А – время выхода на пик в спонтанном процессе. Б – максимальная интенсивность в зимозан-индуцированном процессе. В – площадь под кривой в зимозан-индуцированном процессе.

Figure 3. Results chemiluminescence of neutrophil granulocytes under the influence of magnetic NP *in vitro* (protocol No. 2)

Note. A, time of reaching the peak of spontaneous chemiluminescence. B, maximum intensity in zymosan-induced chemiluminescence. C, area in zymosan-induced chemiluminescence.

Список литературы / References

1. Коленчукова О.А., Столяр С.В., Ладыгина Л.П. Исследование функциональных характеристик нейтрофильных гранулоцитов при воздействии железосодержащих наночастиц ферригидрита // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13, № 22. С. 801-803. [Kolenchukova O.A., Stolyar S.V., Ladygina L.P. The study of the functional characteristics of neutrophilic granulocytes when exposed to iron-containing nanoparticles ferrihydrite. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13, no. 22, pp. 801-803. (In Russ.)]
2. Baldi F., Minacci A., Pepi M., Scozzafava A. Gel sequestration of heavy metals by *Klebsiella oxytoca* isolated from iron mat. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2001, Vol. 36, no. 2-3, pp. 169-174.

Поверхности наночастиц, обеспечивающие взаимодействие с окружающей средой, являются областями, где происходит генерация свободных радикалов. Генерация свободных радикалов, индуцирующая оксидативный стресс, по современным представлениям, является одним из основных механизмов токсичности наноматериалов *in vivo* [9]. Генерация свободных радикалов может протекать как во внеклеточном пространстве, так и при попадании наночастиц внутрь клетки. На первом этапе ответа клеток происходит активация противоокислительного потенциала клеток, способствующая их защите от реактивных форм кислорода [3]. Следовательно, первой реакцией на наночастицы в клетках является включение защитного механизма, направленного на снижение концентрации свободных радикалов. На что и указывает низкий уровень позднего ответа спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов на воздействие НЧ *in vitro* и отражает низкую концентрацию активных форм кислорода и, таким образом, снижение метаболической активности клеток при длительном воздействии НЧ.

Заключение

Установлено, что при воздействии НЧ на клетку значительно снижается интенсивность оксидации. Уровень свободнорадикального окисления снижается при предварительной инкубации клеток с НЧ. При этом кратковременный эффект НЧ может быть модулирующим и зависеть от исходного уровня реактивности клеток. Уникальная особенность НЧ состоит в том, что снижение оксидативного стресса при их воздействии происходит исключительно в стимулированной реакции. Таким образом, можно отметить, что действие НЧ реализуется преимущественно на активированные клетки. Поскольку наночастицы могут накапливаться и достаточно длительное время сохраняться в организме, а их взаимодействие с биологическими объектами в значительной мере определяется свойствами наночастиц, становится очевидной необходимость проведения исследований этих процессов на системном уровне и привлечение методов предсказания свойств наночастиц и моделирования механизмов взаимодействия наночастиц с биологическими молекулами и системами.

3. Brzicova T., Javorkova E., Vrbova K., Zajicova A., Holan V., Pinkas D., Philimonenko V., Sikorova J., Klema J., Topinka J., Rossner P.Jr. Molecular responses in THP-1 macrophage-like cells exposed to diverse nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)*, 2019, Vol. 9, no. 5, pii: E687. doi: 10.3390/nano9050687.
4. de Sole P., Lippa S., Lixxarru G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to access oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.*, 1983, Vol. 3, pp. 391-400.
5. Dobretsov K., Stolyar S., Lopatin A. Magnetic nanoparticles: a new tool for antibiotic delivery to sinonasal tissues. Results of preliminary studies. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.*, 2015, Vol. 35, pp. 97-102.
6. Gao G., Li J., Zhang Y., Chang Y.Z. Cellular iron metabolism and regulation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2019, Vol. 1173, pp. 21-32.
7. Holan V., Javorkova E., Vrbova K., Vecera Z., Mikuska P., Coufalik P., Kulich P., Skoupy R., Machala M., Zajicova A., Rossner P. A murine model of the effects of inhaled CuO nanoparticles on cells of innate and adaptive immunity – a kinetic study of a continuous three-month exposure. *Nanotoxicology*, 2019, Vol. 13, no. 7, pp. 952-963.
8. Kianpour S., Ebrahiminezhad A., Mohkam M., Tamaddon A.M., Dehshahri A., Heidari R., Ghasemi Y. Physicochemical and biological characteristics of the nanostructured polysaccharide-iron hydrogel produced by microorganism *Klebsiella oxytoca*. *J. Basic Microbiol.*, 2017, Vol. 57, no. 2, pp. 132-140.
9. Kreitinger J.M., Beamer C.A., Shepherd D.M. Environmental immunology: lessons learned from exposure to a select panel of immunotoxicants. *J. Immunol.*, 2016, Vol. 196, no. 8, pp. 3217-3225.
10. Poh T.Y., Ali NABM, Mac Aogáin M., Kathawala M.H., Setyawati M.I., Ng K.W., Chotirmall S.H. Inhaled nanomaterials and the respiratory microbiome: clinical, immunological and toxicological perspectives. *Part. Fibre Toxicol.*, 2018, Vol. 15, no. 1, 46. doi: 10.1016/j.cellimm.2014.07.007.
11. Pedata P., Petrarca C., Garzillo E.M., di Gioacchino M. Immunotoxicological impact of occupational and environmental nanoparticles exposure: The influence of physical, chemical, and combined characteristics of the particles. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2016, Vol. 29, no. 3, pp. 343-353.
12. Roach K.A., Stefaniak A.B., Roberts J.R. Metal nanomaterials: Immune effects and implications of physicochemical properties on sensitization, elicitation, and exacerbation of allergic disease. *J. Immunotoxicol.*, 2019, Vol. 16, no. 1, pp. 87-124.
13. Stolyar S.V., Balaev D.A., Ladygina V.P., Dubrovskiy A.A., Krasikov A.A., Popkov S.L., Bayukov O.A., Knyazev Y.V., Yaroslavtsev R.N., Volochaev M.N., Iskhakov R.S., Dobretsov K.G., Morozov F.V., Falaleev O.V., Inzhevatin, E.V., Kolenchukova O.A., Chizhova I.A. Bacterial ferrihydrite nanoparticles: preparation, magnetic properties, and application in medicine. *J. Supercond. Nov. Magn.*, 2018, Vol. 31, pp. 2297-2304.

Авторы:

Коленчукова О.А. — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“»; профессор кафедры биофизики ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

Столяр С.В. — д.ф.-м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской части ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»; начальник Международного научного центра исследований экстремальных состояний организма ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Ладыгина В.П. — научный сотрудник Международного научного центра исследований экстремальных состояний организма ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», г. Красноярск, Россия

Бирюкова Е.А. — научный сотрудник ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, Россия

Authors:

Kolenchukova O.A., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Molecular Cell Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Biophysics, Siberia Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Stolyar S.V., PhD, MD (Physics and Mathematics), Senior Research Associate, Research Sector, Siberia Federal University; Head, International Scientific Centre for Studying Extreme States of an Organism, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Ladygina V.P., Research Associate, International Scientific Centre for Studying Extreme States of an Organism, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Biryukova E.A., Research Associate, Siberia Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 22.11.2019
Отправлена на доработку 16.01.2020
Принята к печати 18.03.2020

Received 22.11.2019
Revision received 16.01.2020
Accepted 18.03.2020