

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 577.121:615.32

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПОДГОТОВКИ ПРОБ ДЛЯ НЕЦЕЛЕВОГО МЕТАБОЛОМНОГО АНАЛИЗА АДГЕЗИВНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Кессених Е. Д., Мигунова М. А., Кривошеина М. И., Мурашко Е. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Кессених Елизавета Дмитриевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава
России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия,
197341.
E-mail: kessenikh_ed@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию 07.05.2024
и принята к печати 28.05.2024.

РЕЗЮМЕ

Метаболомика представляет собой количественный и качественный анализ максимально полного набора метаболитов, присутствующих в клетках, биологических жидкостях и тканях, с использованием хеометрического и статистического анализа различий между метаболомами исследуемых групп. Надежность полученных аналитических данных и, как следствие, достоверная биологическая интерпретация результатов метаболомного исследования обусловлены выбором надлежащих процедур преаналитического этапа.

В обзоре представлены общие рекомендации по планированию и организации нецелевого метаболомного исследования с использованием адгезивных клеточных культур. Рассмотрены основные стратегии оптимизации процедуры подготовки проб к анализу и выбора условий культивирования клеточных культур, отбора проб, снижения метаболической активности и экстракции метаболитов.

Ключевые слова: адгезивная клеточная культура, метаболомика, нормализация, подавление метаболизма, пробоподготовка, экстракция метаболитов.

Для цитирования: Кессених Е.Д., Мигунова М.А., Кривошеина М.И., Мурашко Е.А. Аналитические подходы подготовки проб для нецелевого метаболомного анализа адгезивных клеточных культур. Российский журнал персонализированной медицины. 2024;4(3):268-275. DOI: 10.18705/2782-3806-2024-4-3-268-275. EDN: IJWRSN

UNTARGETED METABOLOMIC ANALYSIS OF ADHERENT CELL CULTURES: GENERAL RECOMMENDATIONS FOR SAMPLE PREPARATION

Kessenikh E. D., Migunova M. A., Krivosheina M. I., Murashko E. A.

Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Kessenikh Elizaveta D.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197314.
E-mail: kessenikh_ed @almazovcentre.ru

Received 07 May 2024; accepted 28 May 2024.

ABSTRACT

Metabolomics is a comprehensive quantitative and qualitative analysis of metabolites in biological specimens (cells, biological fluids and tissues). It includes chemometric and statistical analysis of metabolomic data to assess group-wise differences. The reliability of the analytical data and the biological meaningful results of the metabolomics study are determined by the selection of appropriate procedures of sample preparation.

The review outlines general recommendations for planning and organizing untargeted metabolomics studies of adherent cell cultures. The main strategies and procedures for optimization of sample preparation and selection of culture conditions, sampling, metabolism quenching and metabolite extraction are considered.

Key words: adherent cell culture, metabolite extraction, metabolomics, normalization, quenching, sample preparation.

For citation: Kessenikh ED, Migunova MA, Krivosheina MI, Murashko EA. Untargeted metabolomic analysis of adherent cell cultures: general recommendations for sample preparation. Russian Journal for Personalized Medicine. 2024;4(3):268-275. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2024-4-3-268-275. EDN: IJWRSN

ВВЕДЕНИЕ

Метабономика представляет собой аналитический метод исследования малых молекул метаболитов (< 1500 Да), присутствующих в исследуемой биологической системе. Использование такого подхода подразумевает высокопроизводительный скрининговый анализ, результатом которого является информация о метаболическом профиле, биохимических путях метаболизма и их изменениях при различных патологиях, воздействиях окружающей среды, лекарственных средств или токсинов.

Объектами метаболомного биомедицинского анализа могут служить образцы клеточных культур, биологических жидкостей, тканей, выдыхаемого воздуха людей и лабораторных животных, что предъявляет определенный ряд требований к планированию и проведению таких исследований [1]. Высокая гетерогенность и, зачастую, ограниченное количество клинических образцов или образцов животного происхождения может вносить дополнительные ограничения на обработку массивов метаболомных данных и дальнейшую интерпретацию полученных результатов.

Во многом эту проблему можно решить за счет использования культивируемых клеток млекопитающих. Клеточная культура обеспечивает контролируемую модель функций и характеристик определенного типа клеток. Образцы клеточных культур можно стандартизировать и контролировать на предмет однородности, а планирование и организация эксперимента позволяют предусмотреть необходимое количество образцов контроля качества и биологических повторов, а также в более гибкой форме осуществить получение необходимого материала для подтверждения данных предварительной гипотезы нецелевого метаболомного исследования [2]. Метабономика клеточных культур позволяет получить информацию о внутриклеточном метаболизме и дает представление о фундаментальных клеточных процессах в различных условиях.

Метаболомный анализ включает в себя несколько последовательных этапов, объединенных в единый рабочий процесс:

- Планирование метаболомного исследования, которое включает в себя постановку гипотезы и составление дизайна эксперимента. На данном этапе осуществляется выбор подходящей модельной клеточной линии, условий ее культивирования и возможных аналитических подходов;

- Биоаналитический этап заключается в постановке эксперимента и осуществлении инструментального анализа биологических образцов. Это подразумевает культивирование клеток в выбран-

ных условиях и отбор биологических образцов и культуральной среды в количестве, достаточном для эндо- и экзотаболомного анализа; подавление метаболизма, снижение ферментативной активности и фиксацию метаболома (quenching); экстракцию метаболитов и непосредственно инструментальный метаболомный анализ;

- Хемометрический этап заключается в статистической обработке полученных данных, предварительной обработке и анализе данных;

- Биохимическая интерпретация данных и валидация результатов.

В зависимости от поставленной задачи и сформулированной биологической гипотезы в рамках метаболомного исследования могут быть применены различные аналитические стратегии — целевой или нецелевой метаболический анализ, метаболическое и метаболомное профилирование, а также получение метаболических «отпечатков пальцев» [3].

Так, для количественного или полук количественного определения ограниченного числа метаболитов используется селективная подготовка биологических образцов в рамках целевого анализа. Такой подход позволяет обеспечить низкие пределы обнаружения аналитов и увеличить точность их определения.

Нецелевое метаболическое профилирование заключается в количественном и качественном анализе биологических образцов, который описывает закономерности метаболизма ряда метаболитов, принадлежащих к одному классу химических соединений или метаболическому пути. В этом случае исследуемые группы аналитов могут быть селективно экстрагированы из состава биологического образца.

С целью быстрого скрининга биологических образцов и их последующей классификации применяются метаболические «отпечатки пальцев». В рамках этого анализа используется простая не-селективная подготовка проб к анализу и не осуществляется количественная или качественная оценка метаболитов.

Метаболомное профилирование подразумевает количественный (абсолютный или относительный) и качественный анализ максимально полного числа метаболитов, присутствующих в биологической системе (клетках, биологических жидкостях, тканях).

КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В МЕТАБОЛОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Выбор модельной клеточной культуры во многом обоснован целями и задачами метаболомного

исследования. В роли объекта исследования могут выступать первичные клеточные культуры, источником которых являются органы, ткани или клетки, непосредственно извлеченные из организма. Они в полной мере сохраняют большинство фенотипических характеристик и представляют собой модель *in vitro* для изучения метаболических и биохимических путей конкретной ткани и регуляторных механизмов [4].

Различные онкогенные и неонкогенные клеточные линии являются более универсальной и стабильной моделью для метаболомных исследований по сравнению с первичными клеточными культурами. Их характеризует высокая доступность, практически неограниченная продолжительность жизни, стандартизированные условия культивирования или стабильный фенотип, не зависящий от характеристик донора. Отдельного внимания заслуживает направление онкометабономики опухолевых клеточных линий, получившее широкое распространение в изучении метаболических изменений, сопровождающих прогрессирование опухоли, и ее реакций на условия окружающей среды и лекарственные препараты [4].

Использование клеточных линий, культивируемых в контролируемых и стабильных условиях, позволяет добиться снижения биологической изменчивости по сравнению с изменчивостью, наблюдаемой на животных моделях и людях. С целью уменьшения систематических ошибок, повышения статистической точности результатов и снижения влияния случайных факторов внешней среды метаболомное исследование включает в себя обязательные этапы рандомизации образцов, использование биологических, технических и аналитических повторов и применение образцов контроля качества.

Биологическими повторами являются образцы клеточной культуры, выращенные независимо друг от друга и в одинаковых условиях и подвергшиеся одним и тем же этапам подготовки проб к последующему анализу. Для обеспечения точности измерений в метаболомике клеточных культур необходимо использование как минимум трех технических повторов, которые представляют собой разные аликвоты клеток, собранные из одной и той же культуральной колбы, чашки или лунки (биологического повтора) [5].

В нецелевом исследовании образцы контроля качества представляют собой пулированные аликвоты экспериментальных образцов, которые также подвергаются всем этапам подготовки проб к анализу.

ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП МЕТАБОЛОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Преаналитический этап метаболомного исследования клеток состоит из культивирования клеточной культуры, отбора образцов, остановки ферментативной активности, подавления метаболизма и фиксации метаболома, экстракции метаболитов и других процедур очистки и концентрирования биологических образцов [4, 6, 7].

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КЛЕТОК

Условия культивирования клеток существенно влияют на их метаболизм, что, в свою очередь, приводит к необходимости их оптимизации, как одной из самых серьезных задач метаболомики клеточных культур. Состав культуральной среды (питательные вещества, факторы роста, сыворотка животного происхождения, добавки) является основным фактором, определяющим рост клеток; любое изменение состава среды может привести к изменениям внутриклеточных и внеклеточных профилей метаболитов. Использование неоптимальных составов сред для клеточных линий влияет на все стадии их культивирования и в конечном счете может привести к изменениям в метаболомном профиле, по сравнению с теми же линиями, выращенными в оптимизированных условиях [4, 5].

В работе [8] был проведен сравнительный анализ клеточной культуры HepG2 с низкой и высокой плотностью клеток в зависимости от различных фаз роста и выявлены различия в профилях метаболитов для субконфлюэнтных (низкая плотность, высокий индекс пролиферации) или конфлюэнтных (высокая плотность, остановка роста) образцов. Возраст клеточных культур (выраженный в количестве пассажей) также может быть фактором, влияющим на клеточный метаболом [9]. Таким образом, эти параметры можно отнести к дополнительным факторам, требующим особого внимания и оказывающим влияние на полученные данные и их последующую биологическую интерпретацию.

Стандартизация условий культивирования в рамках метаболомного исследования с учетом каждого из перечисленных факторов позволяет повысить воспроизводимость полученных данных и обеспечить стабильность фенотипа. Правильный план эксперимента имеет решающее значение для минимизации влияния этих переменных на конечные результаты метаболомного эксперимента.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ КЛЕТОК К МЕТАБОЛОМНОМУ АНАЛИЗУ

Подготовка биологических образцов к анализу является ключевым этапом в любом метаболомном исследовании. Использование клеточных культур зачастую требует более сложных процедур пробоподготовки по сравнению с использованием биологических жидкостей (кровь, моча, ликвор).

Отбор образцов клеточных культур зависит от вида исследуемых клеток, типа клеточной культуры (адгезивные или суспензионные) и включает в себя разделение исследуемого образца для анализа внутриклеточных (эндометаболом) и внеклеточных (экзометаболом) метаболитов. К данному этапу предъявляется требование сохранения целостности клеток до завершения их разделения с питательной средой [4, 10].

В случае использования суспензионных культур стадия отделения питательной среды от клеточного материала может быть осуществлена с помощью центрифугирования или фильтрования. Отделение клеток адгезивных культур от поверхности культурального сосуда выполняется либо за счет ферментативных реакций с использованием растворов трипсина, либо механически с помощью скребков для клеток. Процедура сбора клеток должна быть основана на обеспечении постоянства состава биологического образца и предотвращении возможных искажений полученных результатов за счет деградации целевых компонентов. Несмотря на широкое использование трипсина для отделения адгезивных клеток от поверхности культуральных сосудов, в некоторых исследованиях сообщалось о возможности повреждения клеточных мембран [11], утечки метаболитов и снижения их концентрации при сборе клеток таким путем.

В работе [12] авторами был предложен метод, позволяющий проводить сбор клеток, прекращение метаболической активности и экстракцию метаболитов в рамках единой процедуры соскабливания адгезивных клеток в охлажденном экстракционном растворителе (80 % водном растворе метанола).

В рамках процедуры отбора важным этапом является нормализация биологических образцов для дальнейшего метаболомного исследования, которая должна проводиться независимо в каждом биологическом повторе клеточной культуры (культуральной колбе, чашке или лунке). С этой целью был предложен ряд различных методов, включая подсчет клеток [13, 14], оценку концентрации белка или ДНК [15, 16], а также специфические метаболические маркеры [9]. Наиболее распространен-

ным методом нормализации образца адгезионной клеточной культуры является подсчет количества клеток с использованием параллельной независимой пробы. Такой подход обусловлен деструктивным характером сбора и возможной потерей внутриклеточных метаболитов, возникающей при трипсинизации клеток [1].

Дополнительным шагом подготовки образцов клеточных культур при разделении внутри- и внеклеточных метаболитов является промывка клеток перед последующей процедурой снижения ферментативной активности и подавления метаболизма. Эта процедура позволяет предотвратить загрязнение пробы компонентами питательной среды, однако приводит к увеличению риска потери целевых компонентов образца за счет неспецифической утечки или секреции [10]. Фосфатно-солевой буфер или 0,9 % охлажденный водный раствор NaCl представляют собой изотонические растворы, которые вызывают меньшую утечку аналитов через клеточную мембрану, не повреждают целостность клетки и эффективно замедляют превращение аденозинтрифосфата (АТФ) в аденозиндифосфат (АДФ) и аденозинмонофосфат (АМФ), тем самым уменьшая потерю внутриклеточных метаболитов по сравнению с другими растворителями, такими как метанол [1, 17].

Целесообразность использования этапа промывки образцов клеточных культур должна быть оценена исходя из задач метаболомного исследования, что обусловлено увеличением рисков повреждения клеток и искажения конечных результатов. Однако даже остаточные количества питательной среды могут внести существенные изменения в метаболомный профиль.

ПОДАВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА, СНИЖЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ФИКСАЦИЯ МЕТАБОЛОМА (QUENCHING)

Первым необходимым шагом процедуры подготовки проб к метаболомному анализу является быстрая остановка ферментативной активности, подавление метаболизма и фиксация метаболома. Подавление клеточной активности является критической проблемой для определения экзо- и эндометаболизма. Метаболические профили должны быть воспроизводимы и отражать физиологическое состояние клеток на момент отбора проб [4].

Общие стратегии фиксации метаболома обычно основаны на быстром изменении условий окружающей среды (температуры и pH). Повышение температуры приводит к эффективному прекращению

метаболизма за счет денатурации ферментов, в том время как понижение температуры направлено на замедление метаболических реакций [10]. Наиболее легко осуществимым способом подавления ферментативной активности является быстрое замораживание биологических образцов с использованием жидкого азота [6]. Добавление ледяных смесей органических растворителей (50 % водный раствор ацетонитрила, метанол, смесь метанола и воды в соотношении 80:20, смесь ацетонитрила и воды в соотношении 70:30) к клеточному осадку также представляет собой эффективный метод снижения метаболической активности в сочетании с процедурой экстракции целевых компонентов биологического образца. В этом случае в рамках единой процедуры в короткий промежуток времени удастся снизить ферментативную активность и предотвратить деградацию целевых компонентов, а также разрушить клеточные мембраны и эффективно извлечь метаболиты [4, 18].

ЭКСТРАКЦИЯ МЕТАБОЛИТОВ

Выбор оптимальной процедуры экстракции из биологической матрицы основывается на необходимости обнаружения как можно большего количества метаболитов при наименьшем количестве манипуляций, которые могут привести к химической или физической деградации аналитов, внести изменения в конечный результат и быть возможной причиной систематических ошибок.

Это требование создает серьезную проблему при разработке процедур экстракции метаболитов, поскольку любой метод экстракции селективен в отношении определенных химических классов молекул. Таким образом, экстракция метаболитов может привести к значительной потере отдельных компонентов исследуемого образца [5].

Так, для задач целевой метаболомики в качестве процедуры экстракции метаболитов предпочтение отдается тем растворителям, которые избирательно и эффективно извлекают определенный класс химических соединений из биологической матрицы. В то же время, в рамках нецелевого подхода применяются неселективные процедуры, позволяющие извлекать как можно большее количество различных метаболитов.

Внутриклеточные метаболиты обычно экстрагируются охлажденными органическими растворителями (хлороформ, метанол, ацетонитрил и их смеси) или их водными растворами при различных температурных условиях [4].

В работе [17] авторами в рамках сравнительного метаболомного исследования клеточной линии

СНО было установлено, что использование ацетонитрила в качестве экстрагента показало высокую эффективность извлечения целевых полярных компонентов из исследуемых клеток.

Эффективность извлечения метаболитов из биологической матрицы зависит не только от используемых растворителей, но и от полного разрушения клеток во время экстракции, что может быть достигнуто за счет цикла замораживания/оттаивания, обработки ультразвуком или гомогенизации механическим способом с последующей фильтрацией и центрифугированием образцов.

В качестве дополнительных аналитических методов подготовки проб к анализу стоит отметить процедуры очистки полученных экстрактов перед его проведением. Такими методами являются жидкость-жидкостная экстракция, твердофазная экстракция и твердофазная микроэкстракция с последующим концентрированием образцов досуха под током азота и перерастворением в растворителе, совместимом с выбранным аналитическим методом [4].

В рамках метаболомных исследований используются такие аналитические методы, как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС), газовая хроматомасс-спектрометрия (ГХМС), проточно-инжекционный масс-спектрометрический анализ (FIA-MS) и капиллярный электрофорез (КЭ-МС). Использование сочетаний различных аналитических платформ, алгоритмов идентификации и различных баз данных позволяет охватить как можно большее количество детектируемых метаболитов и избежать систематической ошибки в отношении конкретных химических классов [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метаболом как совокупность метаболитов можно считать конечной точкой клеточной активности, отражающей вклад вышестоящих биологических регуляторных процессов, генома, эпигенома, транскриптома и протеома, а также факторов окружающей среды, и, тем самым, связывающей генотип с фенотипом. Выбор наиболее подходящей клеточной модели, условий культивирования, методов снижения метаболической активности, процедуры отбора и подготовки проб к анализу, а также метода аналитического определения метаболитов обуславливается поставленными целями и задачами и определяет успешность всего метаболомного исследования. Несмотря на все многообразие аналитических подходов для решения поставленных

задач, обеспечение достоверности полученных результатов может быть реализовано лишь за счет тщательной оптимизации и стандартизации всех описанных выше этапов.

Разработка универсальных метаболомных протоколов для исследования клеточных культур позволит значительно улучшить воспроизводимость данных, полученных исследователями с использованием различных аналитических платформ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

- Hayton S, Trengove RD, Maker GL. Sample Preparation and Reporting Standards for Metabolomics of Adherent Mammalian Cells. In: D'Alessandro, A. Ed. High-Throughput Metabolomics. Methods in Molecular Biology. Humana/New York/NY. 2019:1978.
- Čuperlović-Culf M. Metabolomics in Animal Cell Culture. *Animal Cell Culture*. 2014;615–646.
- Koek MM, Jellema RH, van der Greef J, et al. Quantitative metabolomics based on gas chromatography mass spectrometry: status and perspectives. *Metabolomics*. 2011;7:307–328.
- León Z, García-Cañaveras JC, Donato MT, Lahoz A. Mammalian cell metabolomics: experimental design and sample preparation. *Electrophoresis*. 2013; Oct;34(19):2762–75.
- Cuperlović-Culf M, Barnett DA, Culf AS, et al. Cell culture metabolomics: applications and future directions. *Drug Discov Today*. 2010; Aug;15(15–16):610–21.
- Zhang A, Sun H, Xu H, et al. Cell metabolomics. *OMICS*. 2013; Oct;17(10):495–501.
- Artati A, Prehn C, Adamski J. LC-MS/MS-Based Metabolomics for Cell Cultures. In: Mandenius CF, Ross J. ed. Cell-Based Assays Using iPSCs for Drug Development and Testing. Methods in Molecular Biology. Humana/New York/NY. 2019:1994.
- Miccheli AT, Miccheli A, Di Clemente R, et al. NMR-based metabolic profiling of human hepatoma cells in relation to cell growth by culture media analysis. *Biochim Biophys Acta*. 2006; Nov;1760(11):1723–31.
- Ruiz-Aracama A, Peijnenburg A, Kleinjans J, et al. An untargeted multi-technique metabolomics approach to studying intracellular metabolites of HepG2 cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *BMC Genomics*. 2011; 12: 251.
- Wahrheit J, Heinzle E. Quenching Methods for the Analysis of Intracellular Metabolites. *Methods in Molecular Biology*. 2013; 211–221.
- Batista U, Garvas M, Nemec M, et al. Effects of different detachment procedures on viability, nitroxide reduction kinetics and plasma membrane heterogeneity of V-79 cells. *Cell Biol Int*. 2010; 34 (6):663–668.
- Dettmer K, Nürnberger N, Kaspar H, et al. Metabolite extraction from adherently growing mammalian cells for metabolomics studies: optimization of harvesting and extraction protocols. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010; 399(3):1127–1139.
- Hutschenreuther A, Kiontke A, Birkenmeier G, et al. Comparison of extraction conditions and normalization approaches for cellular metabolomics of adherent growing cells with GC-MS. *Analytical Methods*. 2012; 4(7): 1953.
- Cao B, Aa J, Wang G, et al. GC-TOFMS analysis of metabolites in adherent MDCK cells and a novel strategy for identifying intracellular metabolic markers for use as cell amount indicators in data normalization. *Anal Bioanal Chem*. 2011; Jul;400(9):2983–93.
- Muschet C, Möller G, Prehn C, et al. Removing the bottlenecks of cell culture metabolomics: fast normalization procedure, correlation of metabolites to cell number, and impact of the cell harvesting method. *Metabolomics*. 2016; 12(10):151.
- Silva LP, Lorenzi PL, Purwaha P, et al. Measurement of DNA concentration as a normalization strategy for metabolomic data from adherent cell lines. *Anal Chem*. 2013; Oct 15;85(20):9536–42.
- Dietmair S, Timmins NE, Gray PP, et al. Towards quantitative metabolomics of mammalian cells: Development of a metabolite extraction protocol. *Analytical Biochemistry*. 2010; 404(2):155–164.
- Halama A. Metabolomics in cell culture — A strategy to study crucial metabolic pathways in cancer development and the response to treatment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2014;564:100–109.

Информация об авторах:

Кессених Елизавета Дмитриевна, научный сотрудник НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мигунова Маргарита Александровна, лаборант-исследователь НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Кривошеина Мария Игоревна, лаборант-исследователь НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр

персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мурашко Екатерина Александровна, к.х.н., заведующий НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, ассистент кафедры математики и естественнонаучных дисциплин Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Kessenikh Elizaveta D., researcher, Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, Research Centre of unknown, rare and genetically determined diseases, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Migunova Margarita A., research assistant, Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, Research Centre of unknown, rare and genetically determined diseases, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Krivosheina Maria I., research assistant, Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, Research Centre of unknown, rare and genetically determined diseases, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Murashko Ekaterina A., Ph.D, head of laboratory, Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, Research Centre of unknown, rare and genetically determined diseases, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.