

DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-41-46

УДК: 618.19-006.66:577-29

Для цитирования: Жидкова Е.М., Кузин К.А., Тилова Л.Р., Савинкова А.В., Борисова О.И., Лаврова М.Д., Максимова В.П., Кирсанов К.И., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Сравнительный анализ биологических эффектов селективного агониста глюкокортикоидного рецептора CPDA на клеточные линии рака молочной железы различных молекулярных подтипов. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16 (6): 41–46. – DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-41-46.

For citation: Zhidkova E.M., Kuzin K.A., Tilova L.R., Savinkova A.V., Borisova O.I., Lavrova M.D., Maximova V.P., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Comparative analysis of biological effects of selective activator of the glucocorticoid receptor CPDA on different subtypes of breast cancer cell lines. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16 (6): 41–46. – DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-6-41-46.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ СЕЛЕКТИВНОГО АГОНИСТА ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА CPDA НА КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПОВ

Е.М. Жидкова<sup>1</sup>, К.А. Кузин<sup>1</sup>, Л.Р. Тилова<sup>1</sup>, А.В. Савинкова<sup>1</sup>,  
О.И. Борисова<sup>1</sup>, М.Д. Лаврова<sup>2</sup>, В.П. Максимова<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1</sup>,  
М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, Е.А. Лесовая<sup>1,3</sup>

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, г. Москва, Россия<sup>1</sup>

115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24. E-mail: zhidkova\_em@mail.ru<sup>1</sup>

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»,  
г. Москва, Россия<sup>2</sup>

125047, г. Москва, Миусская площадь, 9. E-mail: mahoony@mail.ru<sup>2</sup>

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Рязань, Россия<sup>3</sup>

390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9. E-mail: lesovenok@yandex.ru<sup>3</sup>

### Аннотация

Глюкокортикоиды (GC) широко применяются в терапии рака молочной железы (PMЖ) в качестве средств сопроводительной терапии для снижения побочных эффектов цитостатических препаратов. При этом GC могут проявлять собственное про- или антипролиферативное действие на клетки PMЖ, в зависимости от их молекулярно-биологического подтипа, что, в свою очередь, может улучшать или ухудшать прогноз терапии. Кроме того, применение GC ведет к развитию побочных эффектов. Реализация биологического действия GC осуществляется путем активации глюкокортикоидного рецептора (GR) по двум механизмам: транс-репрессии, обуславливающей терапевтических эффект GC, и транс-активации, с которой связаны побочные эффекты, резистентность к цитотоксическим препаратам, а также прогрессия и метастазирование PMЖ. Ранее в нашей лаборатории было показано, что соединение класса селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора (SEGRA) Compound A (CpdA) проявляет GR-зависимый противоопухолевый эффект на моделях гемобластозов *in vitro*, не запуская при этом механизм транс-активации GR. Цель исследования – изучение биологической активности CpdA в отношении PMЖ с различными молекулярными характеристиками на клеточных моделях *in vitro*. В ходе работы было показано антипролиферативное действие CpdA на клетки PMЖ различных молекулярно-биологических подтипов и его способность вызывать транс-репрессию GR-зависимых генов, не вызывая транс-активации. Сравнительный анализ эффектов CpdA и дексаметазона показал, что SEGRA потенциально являются более безопасными и эффективными препаратами как для использования в качестве средств поддерживающей терапии, так и для возможного адъюванта при проведении химиотерапии.

**Ключевые слова:** молекулярные подтипы рака молочной железы, глюкокортикоиды, селективные агонисты глюкокортикоидного рецептора, Compound A, CpdA.

Глюкокортикоиды (GC) широко используются в клинической практике, в том числе при лечении онкологических заболеваний. В терапии рака молочной железы (РМЖ) GC применяют в качестве адъювантов для расширения терапевтических интервалов и снижения побочных эффектов цитотоксических препаратов. Однако длительное применение GC может вызвать резистентность к противоопухолевым препаратам и способствовать прогрессии и метастазированию РМЖ [1].

Биологические эффекты GC реализуются посредством активации глюкокортикоидного рецептора (рис. 1). Терапевтические эффекты GC реализуются через ДНК-независимую транскрептацию, приводящую к аресту клеточного цикла и гибели опухолевых клеток. Развитие побочных эффектов опосредовано запуском механизма трансактивации, для которого необходима димеризация GR [2–4]. Селективные агонисты GR, такие как Cotrunder A, блокируют способность рецептора к димеризации и избирательно запускают в клетках механизм транскрептации [3–5]. Ранее нами и другими исследователями было показано, что данное соединение проявляет GR-зависимый противоопухолевый эффект *in vitro* и *in vivo* на моделях острого лимфобластного лейкоза, рака простаты и др. [4–7].

**Цель исследования** – изучение антипролиферативной активности, транскрепторного и трансактивационного потенциала селективного агониста глюкокортикоидного рецептора (CpdA) на клеточных моделях РМЖ различных подтипов *in vitro* в сравнении с дексаметазоном.

**Материал и методы**

**Клеточные культуры.** Клеточные линии аденокарциномы человека MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-453 и клетки эпителия молочной железы человека HBL-100 культивировали в стандартной среде DMEM («ПанЭко», Россия), содержащей 10 % эмбриональную сыворотку телят, пенициллин

(50 ед/мл) и стрептомицин (50 ед/мл) («ПанЭко», Россия) при 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>.

**Определение кинетики пролиферации.** Клетки (плотность посева 5000 кл/мл) культивировали в течение 10 сут в присутствии CpdA, дексаметазона (Dex) («KRKA», Словения) в концентрациях 0–10 мкМ, или растворителя (0,01 % ДМСО). Подсчет клеток проводили каждые 48 ч с помощью камеры Горяева.

**Проточная цитофлуориметрия.** Распределение клеток по фазам клеточного цикла после 24 ч обработки 100 мкМ CpdA/Dex исследовали с помощью метода проточной цитофлуориметрии с окраской йодистым пропидием (PI), как описано ранее [7].

**Количественная полимеразная цепная реакция, сопряженная с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).** Реакцию обратной транскрипции, количественный ПЦР-анализ в режиме реального времени и оценку изменения экспрессии исследуемой мРНК проводили, как описано ранее [8]. Праймеры для амплификации были сконструированы с помощью базы данных Primer-Bank и пакета программ Oligo 6. Последовательности использованных праймеров для *RPL27* F: ACCGCTACCCCGCAAAGTG, R: CCCGTCGGGCCTTGCGTTTA; *INOS* F: CGGCCATCACCGTGTTCGCC, R: TGCAGTCGAGTGGTGGTCCA; *FKBP51* F: GAATGGTGAGGAAACGCCGAT, R: TGC-CAAGACTAAAGACAAATGGT; *CCND1* F: GCTGGAGCCCGTGAAAAAGA, R: CTC-CGCCTCTGGCATTTTTG; *CCND2* F: CTACCTTCCGCAGTGCTCCTA, R: CCCA-GCCAAGAAACGGTCC; *CCND3* F: TACCCGCCATCCATGATCG, R: AGGCAGTCACTTCAGTGC; *COX2* F: CCGGGTACAATCGCACTTAT, R: GGCGCTCAGCCATACAG.

**Статистическая обработка данных.** Все эксперименты выполнены в трех повторах. Средние значения и среднеквадратичные отклонения рассчитывали с помощью пакета программ Microsoft

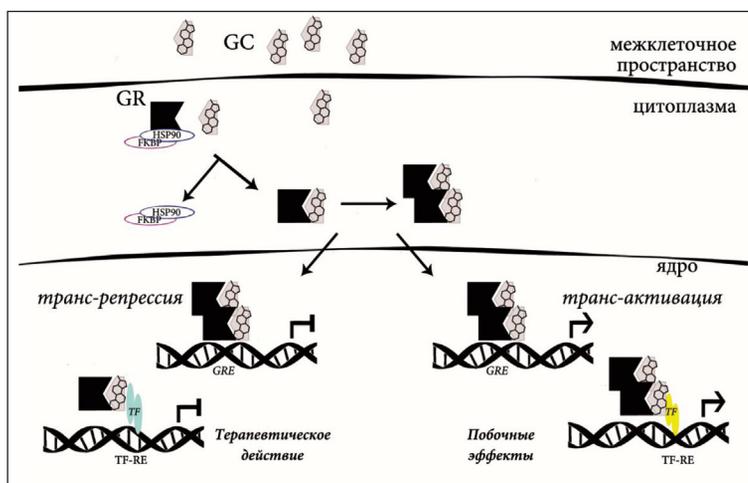


Рис. 1. Механизмы активации глюкокортикоидного рецептора.

Примечание: GC – глюкокортикоид, GR – глюкокортикоидный рецептор, TF – фактор транскрипции, RE – респонсивный элемент

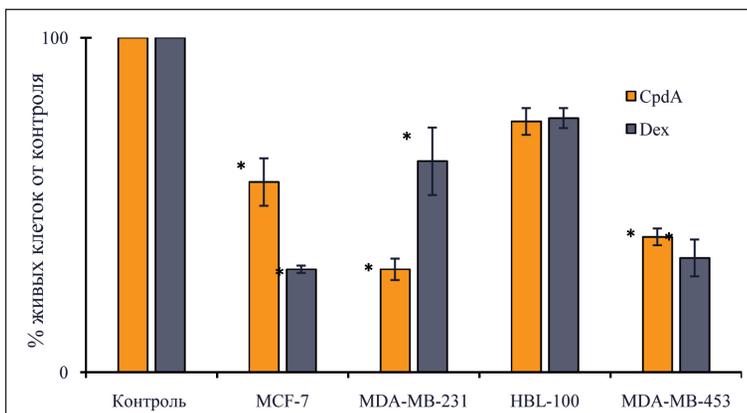


Рис. 2. Число жизнеспособных клеток на 10-е сут обработки (за 100 % принято число клеток в контрольных лунках). Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p<0,05)

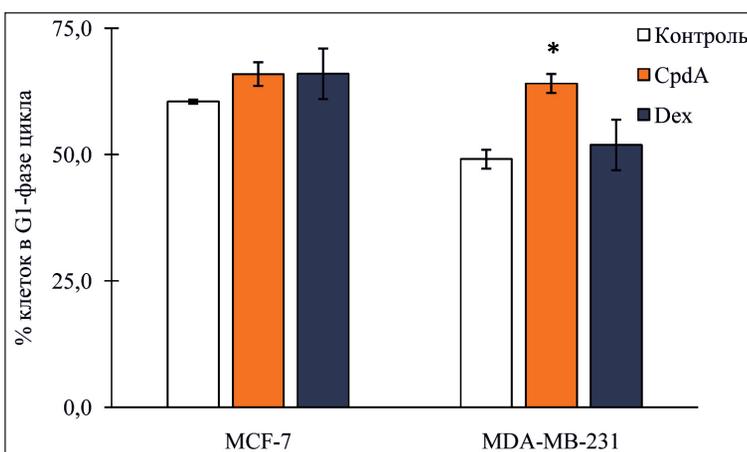


Рис. 3. Относительное число (%) клеток MCF-7 и MDA-MB-231 в G1-фазе клеточного цикла. Клетки культивировали с Dex, CpдA или растворителем в течение 24 ч. Анализ проводили методом проточной цитофлуориметрии, с окрашиванием PI. Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p<0,05)

Excel. Для определения статистической значимости выявленных различий использовали парный двухвыборочный t-тест Стьюдента для средних.

**Результаты и обсуждение**

Для проведения исследования были выбраны 3 клеточные линии РМЖ различных подтипов: MCF-7 (люминальный А), MDA-MB-231 (базально-подобный), MDA-MB-453 (HER2-положительный); а также линия HBL-100 (ER-отрицательные клетки эпителия молочной железы).

*Антипролиферативный эффект CpдA на клетки РМЖ.* Было показано, что эффекты CpдA и Dex заметно различаются для клеточных линий РМЖ различных подтипов (рис. 2). Эффект CpдA на клетки MDA-MB-231 оказался в два раза сильнее эффекта на клетки люминального подтипа РМЖ, в то время как дексаметазон проявил наиболее выраженное действие на клетки линии MCF-7. Для клеточных линий HER2-положительного подтипа не наблюдается существенных различий в эффектах CpдA и Dex.

*Влияние CpдA на клеточный цикл.* Известно, что глюкокортикоиды подавляют клеточное деление,

вызывая клеточный арест лимфоидных клеток и остеобластов за счет снижения уровня D-циклинов [3, 8]. Нами было показано, что CpдA, наравне с дексаметазоном, тормозит клеточное деление, индуцируя арест клеток линий MCF-7 и MDA-MB-231 в G1-фазе (рис. 3).

*Трансрессорный и трансактивационный потенциал CpдA.* Для оценки запуска транс-активации нами был выбран ген *FKBP51* (FK506 Binding Protein 51). Показано, что CpдA, в отличие от классических GC, не проявляет транс-активационного потенциала в клетках MCF-7 и слабо индуцирует транс-активационный механизм в клетках MDA-MB-231. В то же время CpдA индуцирует запуск трансрессии на уровне, близком к дексаметазону. Этот эффект более выражен в клетках люминального подтипа РМЖ, чем базальноподобного (рис. 4).

**Заключение**

CpдA, как и дексаметазон, обладает антипролиферативным эффектом на клетки различных подтипов РМЖ, а также подавляет экспрессию

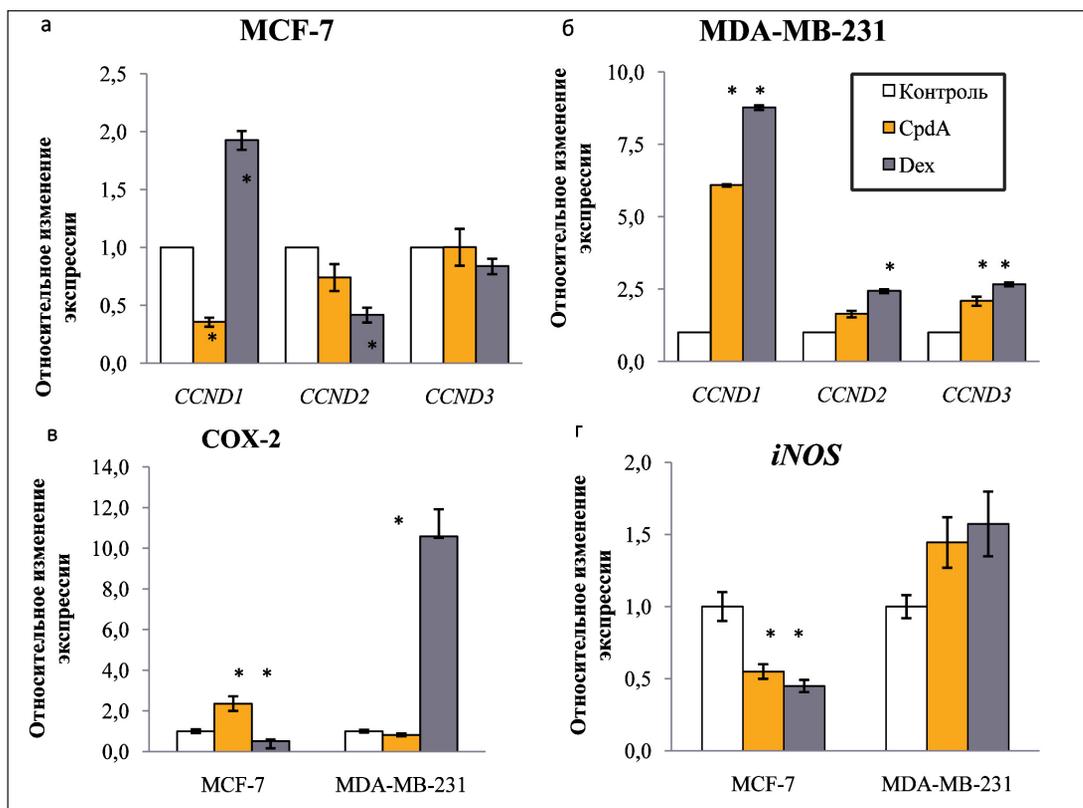


Рис. 4. Влияние Dex и CpdA на экспрессию циклинов (а, б), COX-2 (в) и iNOS (г) в клетках MCF-7 и MDA-MB-231. Клетки инкубировали с Dex, CpdA или растворителем в течение 4 ч. Уровень экспрессии определяли методом ОТ-ПЦР. Количество ПЦР-продуктов нормализовали по количеству ПЦР-продукта рибосомного белка L27 (Rpl27). Примечание: \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p<0,05)

генов, *CCND1,2* и *iNOS* в клетках MCF-7. Важно, что эффекты CpdA для клеток различных подтипов РМЖ заметно отличаются: CpdA обладает максимальным антипролиферативным эффектом на клетки базальноподобного подтипа РМЖ. Полученные результаты являются основанием для дальнейшего изучения SEGRA (в частности, CpdA)

как потенциальных противоопухолевых агентов для терапии базальноподобного подтипа РМЖ, а также как возможную альтернативу GC в качестве средств сопроводительной терапии.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РНФ (проект 17-75-20124) и РФФИ (проекты 16-04-01410 и 15-04-04006).

ЛИТЕРАТУРА

1. Lippman M., Bolan G., Huff K. The effects of glucocorticoids and progesterone on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res.* 1976 Dec; 36 (12): 4602–9.
2. Adcock I.M. Molecular mechanisms of glucocorticosteroid actions. *Pulm Pharmacol Ther.* 2000; 13 (3): 115–26. doi:10.1006/pupt.2000.0243.
3. Schäcke H., Rehwinkel H. Dissociated glucocorticoid receptor ligands. *Curr Opin Investig Drugs.* 2004 May; 5(5): 524–8.
4. Lesovaya E., Yemelyanov A., Swart A.C., Swart P., Haegeman G., Budunova I. Discovery of Compound A – a selective activator of the glucocorticoid receptor with anti-inflammatory and anti-cancer activity. *Oncotarget.* 2015 Oct 13; 6 (31): 30730–44. doi: 10.18632/oncotarget.5078.
5. Lesovaya E.A., Yemelyanov A.Y., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Budunova I.V. Antitumor effect of non-steroid glucocorticoid receptor

- ligand CpdA on leukemia cell lines CEM and K562. *Biochemistry (Mosc).* 2011 Nov; 76 (11): 1242–52. doi: 10.1134/S000629791111006X.
6. Moran T.J., Gray S., Mikosz C.A., Conzen S.D. The glucocorticoid receptor mediates a survival signal in human mammary epithelial cells. *Cancer res.* 2000 Feb 15; 60 (4): 867–72.
7. Савинкова А.В., Тилова Л.Р., Борисова О.И., Жидкова Е.М., Кузин К.А., Кирсанов К.И., Белицкий Г.А., Будунова И.В., Якубовская М.Г., Лесовая Е.А. Противоопухолевый эффект энантиомеров CpdA in vitro на модели острого лимфобластного лейкоза. *Российский биотерапевтический журнал.* 2017; 16 (1): 61–9. doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-61-69.
8. Sánchez I., Goya L., Vallerga A.K., Firestone G.L. Glucocorticoids reversibly arrest rat hepatoma cell growth by inducing an early G<sub>1</sub> block in cell cycle progression. *Cell Growth Differ.* 1993 Mar; 4 (3): 215–25.

Поступила 10.10.17  
Принята в печать 1.11.17

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Жидкова Екатерина Михайловна**, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: Zhidkova\_EM@mail.ru.  
**Кузин Константин Александрович**, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: alenka.savinkova@mail.ru.  
**Тилова Лейла Расуловна**, аспирант отдела химического канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: uhtishkachik@mail.ru.

**Савинкова Алена Валерьевна**, младший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: alenka.savinkova@mail.ru.

**Борисова Ольга Игоревна**, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: deadsilentium@mail.ru.

**Лаврова Мария Дмитриевна**, студент ФГБОУ «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева (г. Москва, Россия). E-mail: mahoony@mail.ru

**Максимова Варвара Павловна**, лаборант-исследователь отдела химического канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: lavarvar@gmail.com

**Кирсанов Кирилл Игоревич**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: kkirsanov85@yandex.ru. SPIN-код: 7329-7263.

**Якубовская Марианна Геннадиевна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: mgyakubovskaya@mail.ru. SPIN-код: 6858-3880.

**Лесовая Екатерина Андреевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела химического канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, Россия). E-mail: lesovenok@yandex.ru. SPIN-код: 7593-2167.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF BIOLOGICAL EFFECTS OF SELECTIVE ACTIVATOR OF THE GLUCOCORTICOID RECEPTOR CPdA ON DIFFERENT SUBTYPES OF BREAST CANCER CELL LINES

**E.M. Zhidkova<sup>1</sup>, K.A. Kuzin<sup>1</sup>, L.R. Tilova<sup>1</sup>, A.V. Savinkova<sup>1</sup>, O.I. Borisova<sup>1</sup>, M.D. Lavrova<sup>2</sup>, V.P. Maximova<sup>1</sup>, K.I. Kirsanov<sup>1</sup>, M.G. Yakubovskaya<sup>1</sup>, E.A. Lesovaya<sup>1,3</sup>**

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia<sup>1</sup>

24, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: zhidkova\_em@mail.ru<sup>1</sup>

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia<sup>2</sup>

9, Miusskaya sq., 125047-Moscow, Russia. E-mail: mahoony@mail.ru<sup>2</sup>

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Moscow, Russia<sup>3</sup>

9, Vysokovoltnaya street, 390026-Ryazan, Russia. E-mail: lesovenok@yandex.ru<sup>3</sup>

### Abstract

Glucocorticoids (GCs) are often used as an adjuvant therapy to reduce the adverse effects of chemotherapy in breast cancer patients. Moreover, GCs can display pro-proliferative or anti-proliferative effects on BC cells depending on their molecular subtype. In addition, long-term use of GCs can induce drug resistance and tumor progression. The biological activity of GCs is mediated by glucocorticoid receptor (GR) via either transrepression or transactivation. The anti-inflammatory effects of GCs are thought to be due to transrepression, while side effects, drug resistance and tumor progression/metastasis are associated with transactivation. We have previously demonstrated that Compound A, a selective GR agonist (SEGRA), has a GR-dependent antitumor effect on blood cancer cells *in vitro*, not triggering the GR transactivation. This study was focused on the analysis of the CpdA activity in BC models *in vitro*. We demonstrated the antiproliferative effect of CpdA on BC cells and its ability to induce transrepression of GR-dependent genes such as *CCND1-3*, *COX-2*, *iNOS* without the induction of transactivation. A comparative analysis showed that CpdA was an effective and safe alternative to dexamethasone in adjuvant chemotherapy for breast cancer.

**Key words: molecular subtypes of breast cancer, glucocorticoids, selective activators of glucocorticoid receptor, Compound A, CpdA.**

### REFERENCES

1. Lippman M., Bolan G., Huff K. The effects of glucocorticoids and progesterone on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res.* 1976 Dec; 36 (12): 4602–9.
2. Adcock I.M. Molecular mechanisms of glucocorticosteroid actions. *Pulm Pharmacol Ther.* 2000; 13 (3): 115–26. doi:10.1006/pupt.2000.0243.
3. Schäcke H., Rehwinkel H. Dissociated glucocorticoid receptor ligands. *Curr Opin Investig Drugs.* 2004 May; 5 (5): 524–8.
4. Lesovaya E., Yemelyanov A., Swart A.C., Swart P., Haegeman G., Budunova I. Discovery of Compound A – a selective activator of the glucocorticoid receptor with anti-inflammatory and anti-cancer activity. *Oncotarget.* 2015 Oct 13; 6 (31): 30730–44. doi: 10.18632/oncotarget.5078.
5. Lesovaya E.A., Yemelyanov A.Y., Kirsanov K.I., Yakubovskaya M.G., Budunova I.V. Antitumor effect of non-steroid glucocorticoid receptor

ligand CpdA on leukemia cell lines CEM and K562. *Biochemistry (Mosc).* 2011 Nov; 76 (11): 1242–52. doi: 10.1134/S000629791111006X.

6. Moran T.J., Gray S., Mikosz C.A., Conzen S.D. The glucocorticoid receptor mediates a survival signal in human mammary epithelial cells. *Cancer res.* 2000 Feb 15; 60 (4): 867–72.

7. Savinkova A.V., Tilova L.R., Borisova O.I., Zhidkova E.M., Kuzin K.A., Kirsanov K.I., Belitky G.A., Budunova I.V., Yakubovskaya M.G., Lesovaya E.A. Anti-tumor effect of CpdA enantiomers *in vitro* in the model of acute lymphoblastic leukemia. *Russian Journal of Biotherapy.* 2017; 16 (1): 61–9. doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-61-69. [in Russian]

8. Sánchez I., Goya L., Vallerga A.K., Firestone G.L. Glucocorticoids reversibly arrest rat hepatoma cell growth by inducing an early G<sub>1</sub> block in cell cycle progression. *Cell Growth Differ.* 1993 Mar; 4 (3): 215–25.

Received 10.10.17

Accepted 1.11.17

ABOUT THE AUTHORS

**Ekaterina M. Zhidkova**, Laboratory Research Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow, Russia). E-mail: Zhidkova\_EM@mail.ru

**Konstantin A. Kuzin**, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: kuzin\_konstantin@mail.ru

**Leyla R. Tilova**, Postgraduate, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: uhtishkachik@mail.ru

**Alyona V. Savinkova**, Junior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: alenka.savinkova@mail.ru

**Olga I. Borisova**, Laboratory Research Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: deadsilentium@mail.ru

**Maria D. Lavrova**, 3-rd-year student of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (Moscow, Russia). E-mail: mahoonny@mail.ru

**Varvara P. Maximova**, Laboratory Research Assistant, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: lavarvar@gmail.com

**Kirill I. Kirsanov**, PhD, Head of Laboratory of Chemical Carcinogens, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: kkirsanov85@yandex.ru. SPIN-code: 7329-7163.

**Marianna G. Yakubovskaya**, MD, PhD, DSc, Head of Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: mgyakubovskaya@mail.ru. SPIN-code: 6858-3880.

**Ekaterina A. Lesovaya**, PhD, Senior Researcher, Department of Chemical Carcinogenesis, N.N. Blokhin NMRCO (Moscow, Russia). E-mail: lesovenok@yandex.ru. SPIN-code: 7593-2167.