

Для цитирования: Поляков Л.М., Князев Р.А., Рябченко А.В., Трифонова Н.В., Котова М.В. Липопротеины высокой плотности плазмы крови как транспортная форма актиномицина Д. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17 (6): 64–69. – doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-64-69.

For citation: Polyakov L.M., Knyazev R.A., Ryabchenko A.V., Trifonova N.V., Kotova M.V. High density lipoproteins of blood plasma as a transport form of actinomycin D. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17 (6): 64–69. – doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-64-69.

ЛИПОПРОТЕИНЫ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАК ТРАНСПОРТНАЯ ФОРМА АКТИНОМИЦИНА Д

Л.М. Поляков, Р.А. Князев, А.В. Рябченко, Н.В. Трифонова, М.В. Котова

Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2. E-mail: knjazev_roman@mail.ru

Аннотация

Введение. Разработка новых и высокоэффективных средств противоопухолевой терапии является одной из приоритетных задач фармакологии. В работе представлено одно из решений данной проблемы, связанное с разработкой транспортных форм противоопухолевых препаратов. **Цель исследования** – изучить способность различных фракций липопротеинов плазмы крови (ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП) взаимодействовать с актиномицином Д и показать роль ЛПВП как транспортной формы актиномицина Д в клетки организма. **Материал и методы.** Исследования выполнены с использованием немеченого и меченого тритием актиномицина Д, препаративного ультрацентрифугирования фракций липопротеинов плазмы крови крыс, хроматографии, а также в опытах *in vivo* с внутривенным введением комплексов ЛПВП с меченым актиномицином Д. **Результаты.** Показана важная роль ЛПВП в образовании комплексов с актиномицином Д по сравнению с ЛПНП и ЛПОН. Получены основные физико-химические характеристики взаимодействия ЛПВП и аполипопротеина А-I с актиномицином Д. Константы ассоциации были порядка 10^5 M^{-1} , а число центров связывания для препарата составило 26 для ЛПВП и 12 для аполипопротеина А-I. В опытах *in vivo* с внутривенным введением крысам комплексов ЛПВП с меченым тритием актиномицином Д показано, что через 30 мин после введения наибольшая удельная радиоактивность была обнаружена в надпочечниках, затем в печени и почках. Вдвое меньшее содержание меченого препарата наблюдали в легких, жировой ткани, тимусе и селезенке. Слабое поглощение метки отмечено в ткани миокарда. **Заключение.** Полученные результаты позволяют считать реальной возможность использования ЛПВП в качестве транспортной формы актиномицина Д в клетки организма.

Ключевые слова: липопротеины плазмы крови, липопротеины высокой плотности, актиномицин Д, транспортные формы цитостатиков, флуоресценция.

HIGH DENSITY LIPOPROTEINS OF BLOOD PLASMA AS A TRANSPORT FORM OF ACTINOMYCIN D

L.M. Polyakov, R.A. Knyazev, A.V. Ryabchenko, N.V. Trifonova, M.V. Kotova

Institute of Biochemistry FRC FTM, Novosibirsk, Russia
2, Timakov Street, 630117-Novosibirsk, Russia. E-mail: knjazev_roman@mail.ru

Abstract

Introduction. The development of new and highly effective antitumor therapy is one of the priorities of pharmacology. The paper presents one of the solutions to the problem related to the development of transport forms of antitumor drugs. **The aim** of the study was to study the ability of various fractions of plasma lipoproteins (VLDLP, LDL, HDL) to interact with actinomycin D and show the role of HDL as a transport form of actinomycin D in the body cells. **Material and methods.** The studies were conducted using unlabeled and tritium-labeled actinomycin D, preparative ultracentrifugation of the rat plasma lipoprotein fractions, chromatography, and *in vivo* experiments with intravenous administration of HDL complexes with labeled actinomycin D. **Results.**

The important role of HDL in the formation of complexes with actinomycin D in comparison with LDL and LPA was shown. The basic physicochemical characteristics of the interaction of HDL and apolipoprotein A-I with actinomycin were obtained. The constants of the association were of the order of 10^5 M^{-1} , and the number of binding sites for the drug was 26 for HDL and 12 for apolipoprotein A-I. In vivo studies on rats, the highest radioactivity after intravenous injection of HDL complexes with tritium-labelled actinomycin D was observed in the adrenal glands, then in the liver and kidneys. The uptake of tritium-labelled actinomycin D was twice lower in the lungs, adipose tissue, thymus and spleen. The low uptake of the label was observed in the myocardial tissue. **Conclusion.** The results obtained demonstrate the feasibility of using HDL as a transport form of actinomycin D in body cells.

Key words: blood plasma lipoproteins, high density lipoproteins, actinomycin D, transport forms of cytostatics.

Одним из приоритетных направлений современной фармакологии является создание терапевтических комплексов лекарственных средств, позволяющих осуществлять адресную доставку препаратов к клеткам-мишеням. Поиск переносчиков лекарственных соединений с целью увеличения их терапевтической эффективности и снижения побочных эффектов продолжается и в настоящее время. Активно изучается возможность применения липопротеинов плазмы крови как наноразмерной транспортной системы [1, 2]. Следует отметить, что активно пролиферирующие опухолевые клетки имеют повышенную потребность в липидах как в структурных компонентах, поэтому отличаются большей способностью захватывать липопротеиновые частицы [3]. В литературе достаточно широко представлена попытка использования липопротеинов низкой плотности в качестве транспортных форм для цитостатиков [4–6], однако в ряде работ указывают на возможность использования для этих целей липопротеинов высокой плотности [7–9].

Целью исследования явилось изучение возможности использования липопротеинов высокой плотности плазмы крови в качестве транспортной формы актиномицина Д.

Материал и методы

В работе использовали меченный тритием актиномицин Д (^3H -Акмц-Д) со специфической активностью 4,1 Ки/ммоль («Амершам», Англия). К 100 мл плазмы крови крыс добавляли $\sim 5 \mu\text{л}$ ^3H -Акмц-Д (0,5 $\mu\text{Ки}$). После инкубирования (30 мин при 20 °С) поэтапное выделение отдельных фракций липопротеинов из плазмы проводили методом ультрацентрифугирования в растворах КВг в присутствии 3 мМ ЭДТА- Na_2 на центрифуге («OptimaL-90K, Beckman-Coulter», Австрия) с использованием ротора 70.1Ti. [10]. Получали три основные фракции липопротеинов: липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП, $0,94 < d < 1,006 \text{ г/мл}$), липопротеины низкой плотности (ЛПНП, $1,006 < d < 1,063 \text{ г/мл}$), липопротеины высокой плотности (ЛПВП, $1,063 < d < 1,21 \text{ г/мл}$) и фракцию инфранатанта с плотностью более 1,21 г/мл. Полученные фракции анализировали на наличие ра-

диоактивности на жидкостном сцинтилляционном счетчике («Марк-II», США) в ЦКП НЦКЭМ.

После ультрацентрифугирования фракцию ЛПВП подвергали хроматографическому разделению на колонке (0,8×40 см, Сефадекс G-50, «Pharmacia», Швеция). Элюент: 5мМ трис- HCl буфер, pH 7,4, 0,15 М NaCl , не содержащий 6 М мочевины. Профиль элюции регистрировали на УФ-детекторе («ЛКВ», Швеция) при длине волны 280 нм. Кроме того, элюат анализировали на наличие радиоактивности. Измерение концентрации белка проводили на спектрофотометре (Evolution 300, «Thermo Scientific», США) в ЦКП «Спектрометрические измерения» на базе НИИ биохимии ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск.

В опытах *in vivo* эксперименты проведены на самцах крыс Вистар, массой 180–220 г. Исследования выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Комплексы ЛПВП с меченым тритием актиномицином Д (0,5 мл, 0,5 $\mu\text{Ки}$) на 100 г массы тела вводили в хвостовую вену крысы. Через 30 мин после введения животных подвергали декапитации под эфирным наркозом. Тушки крыс перфузировали 0,15 М NaCl через аорту и v. porta. Радиоактивность измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике («Марк-II», США) в ЦКП НЦКЭМ. Величину радиоактивности органов и тканей рассчитывали в имп/мин на 1 мг ткани.

Расчет констант ассоциации комплексов ЛПВП-актиномицин Д осуществляли методом тушения триптофановой флуоресценции [11]. Измерения проводили на спектрофлуориметре RF-5301PC («Shimadzu», Япония) при длине волны возбуждения 285 нм и эмиссии в диапазоне от 300 до 600 нм. Рабочий раствор (1 мМ) немеченого актиномицина Д («AppliChem», Германия) готовили из 10 мМ маточного раствора. Титрование проводили в термостатируемой кювете при температуре 20 °С с добавлением аликвот рабочего раствора (1 мМ) немеченого актиномицина Д (по 2 мкл) к 2 мл ЛПВП. Молекулярные массы ЛПВП и аполипопротеина А-I принимались за 300 кДа и 28 кДа соответственно.

Результаты и обсуждение

Добавление меченого тритием актиномицина Д к плазме крови крыс и последующее ультрацентрифугирование показали, что более половины содержания меченого препарата находилось в составе ЛП-фракций и 40,3 % приходилось на фракцию инфранатанта (рис. 1). Обращает на себя внимание, что среди ЛП-фракций основная часть метки была в составе фракции ЛПВП (48,8 %).

После ультрацентрифугирования фракция ЛПВП, содержащая меченый актиномицин Д, была подвергнута гель-хроматографии на сефадексе G-50 (рис. 2А). Пик радиоактивности препарата совпадал с объемом выхода фракции ЛПВП, хотя и отмечалось небольшое уменьшение удельной радиоактивности за счет сорбции меченого препарата гранулами сефедекса. Практически аналогичную хроматографическую картину мы получили после инкубации изолированной фракции ЛПВП с немеченым актиномицином Д. Наличие немеченого препарата в элюате оценивали методом его спектральной характеристики по максимуму поглощения при длине волны 440 нм. В результате хроматографического разделения пик поглощения при 440 нм полностью совпадал с объемом выхода фракции ЛПВП, что подтверждает возможность комплексообразования и, кроме того, указывает на сохранение устойчивости препарата в комплексе с частицами ЛПВП. Следует отметить, что процесс носил обратимый характер, поскольку введение в данную систему избыточного количества (10^{-6} – 10^{-7} М) немеченого актиномицина Д приводило к вытеснению метки из комплексов с ЛПВП (рис. 2Б).

Для количественной оценки взаимодействия ЛПВП-актиномицин Д нами были использованы данные спектров излучения (флуоресценции). Взаимодействие ЛПВП с немеченым актиномицином Д сопровождалось тушением флуоресценции триптофанилов (рис. 3). При этом форма спектров, их полуширина практически не изменялись. Наблюдался небольшой сдвиг в длинноволновую область спектра, что объясняется локальными конформационными перестройками белкового компонента ЛПВП после взаимодействия его с препаратом. Практически сходные кривые тушения флуоресценции мы получили после инкубации основного белкового компонента ЛПВП – аполипопротеина А-I с актиномицином Д. Следует отметить, что в обоих случаях наибольшее снижение флуоресценции в точке эквимоллярности составило около 80 %.

Изучение временной зависимости тушения флуоресценции при одномоментном добавлении насыщающих количеств актиномицина Д показало, что полное насыщение связывающих областей ЛПВП и аполипопротеина А-I наблюдалось через 30 мин взаимодействия. На основании результатов полученных кривых тушения флуоресценции

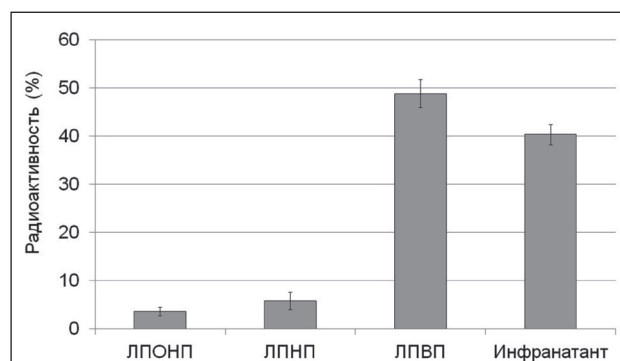


Рис. 1. Суммарное распределение радиоактивности (%) ³H-актиномицина Д между фракциями ЛП плазмы крови крыс по результатам препаративного ультрацентрифугирования

и с учетом молекулярных масс были получены основные физико-химические характеристики взаимодействия ЛПВП и аполипопротеина А-I с актиномицином Д. Константы ассоциации были порядка 10^5 М⁻¹, а количество центров связывания для препарата составило 26 для ЛПВП и 12 для аполипопротеина А-I.

Полученные результаты свидетельствуют, что связывание характеризуется недостаточно высоким сходством, поэтому его не следует характеризовать как высокоспецифическое. Однако следует заметить, что в настоящее время имеются данные о реализации биологически активного эффекта комплексов аполипопротеина А-I со стероидными гормонами с константами ассоциации аналогичного порядка – 10^5 М⁻¹ [12]. Основываясь на этом, можно предположить, что и в данном случае комплексы ЛПВП-актиномицин Д попадут в клетки-мишени, а невысокая специфичность образованных комплексов будет способствовать «освобождению» препарата внутри клетки и эффективной реализации его цитостатического эффекта.

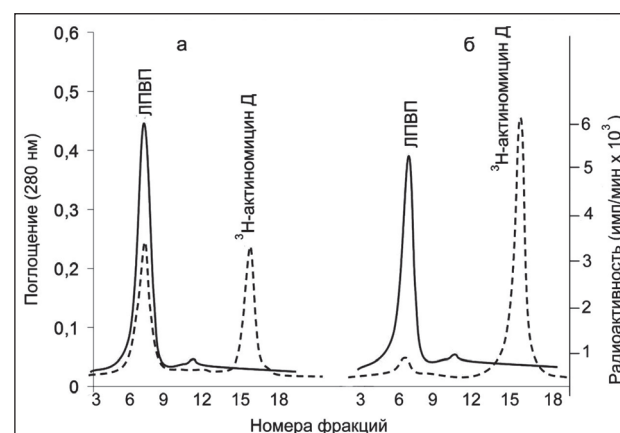


Рис. 2. Связывание меченого тритием актиномицина Д с фракцией ЛПВП плазмы крови крыс: А – ЛПВП + меченый тритием актиномицин Д; Б – ЛПВП + меченый тритием актиномицин Д в присутствии 1000-кратного избытка немеченого актиномицина Д. Колонка: сефадекс G-50 (0,8×40 см). Элюент: 5 мМ Трис-НСl, рН 7,4, 0,15 М NaCl, 5 мМ ЭДТА. Сплошная линия – поглощение белка при 280 нм; пунктирная линия – радиоактивность

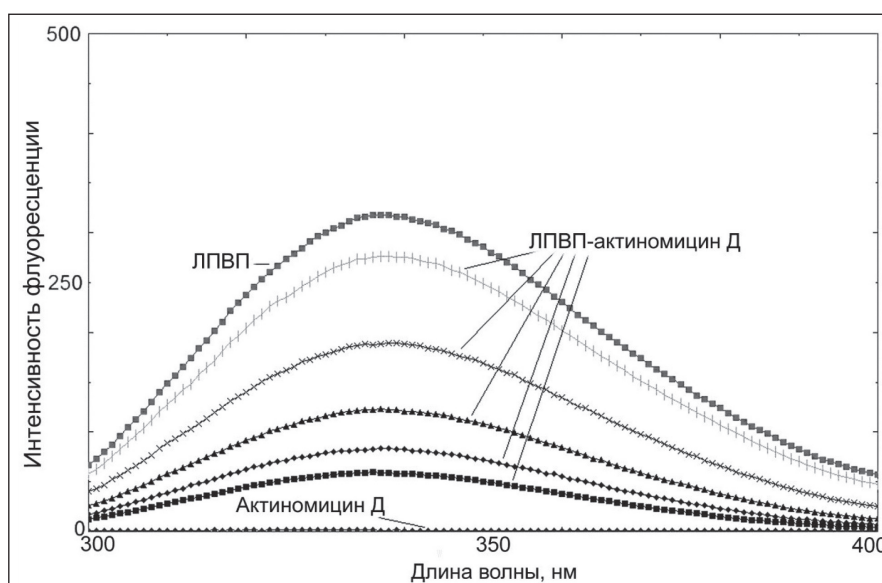


Рис. 3. Тушение триптофановой флуоресценции ЛПВП при добавлении актиномицина Д; 1 – ЛПВП; 2–6 – добавление аликвот актиномицина Д к ЛПВП; 7 – актиномицин Д

Доказательство возможности использования ЛПВП в качестве транспортной формы для доставки актиномицина Д в органы и ткани организма было продемонстрировано в опытах на животных. Для этого комплексы ЛПВП и меченого тритием актиномицина вводили в хвостовую вену крысы. Распределение радиоактивного препарата в органах и тканях крыс через 30 мин после введения приведено в таблице.

Оказалось, что через 30 мин после внутривенного введения меченого препарата в комплексе с ЛПВП наибольшая удельная радиоактивность была обнаружена в надпочечниках, затем – в печени и почках. Как минимум, вдвое меньшее поглощение меченого препарата наблюдали в легких, жировой ткани, тимусе и селезенке. Совсем слабое поглощение метки отмечено в ткани миокарда.

Обращает на себя внимание высокое накопление препарата надпочечниками. Этот факт вполне понятен, так как в стероидпродуцирующих органах крыс для синтеза стероидных гормонов используется холестерин сосудистого происхождения – эфиры холестерина ЛПВП [13, 14]. В пользу этого факта свидетельствуют также литературные дан-

ные о том, что связывание меченого хлордекона с ЛПВП обеспечивает его преимущественное накопление в стероидогенных клетках надпочечников и семенников – органов, наиболее подверженных токсическому воздействию чужеродных соединений [15].

Наличие высокой радиоактивности в печени, как уже отмечалось, объясняется ведущей ролью этого органа в метаболизме ЛПВП и переносимых ими различных лигандов, в частности эфиров холестерина [16]. Следует отметить достаточно высокий уровень меченого актиномицина в почках, что подтверждается работами, в которых показана важнейшая роль почек в катаболизме ЛПВП и апоА-I как основного структурообразующего компонента данной фракции [17]. У крыс, по литературным данным, 39 % всего пула апоА-I катаболизирует в почках [18].

Таким образом, в работе представлен анализ распределения меченого тритием актиномицина Д между основными фракциями липопротеинового спектра плазмы крови крыс. По результатам препаративного ультрацентрифугирования более половины общего содержания меченого актино-

Таблица

Поглощение меченого тритием актиномицина Д органами и тканями крыс через 30 мин после внутривенного введения в комплексе с ЛПВП (радиоактивность в имп/мин на 1 мг ткани)

Органы и ткани	Радиоактивность (имп/мин на 1 мг ткани)
Печень	40,8 ± 9,5
Сердце	9,6 ± 1,1
Селезенка	2,3 ± 0,7
Почки	26,3 ± 3,8
Надпочечники	47,5 ± 9,5
Тимус	6,4 ± 1,3
Жировая ткань	6,8 ± 1,1

Примечание: в группе 5 животных.

мицина Д находилось в составе ЛП-фракций и 40,3 % – во фракции инфранатанта. Среди ЛП-фракций основная часть метки была во фракции ЛПВП (48,8 %). Образование комплексов между частицами ЛПВП и меченым препаратом было подтверждено методом гель-хроматографии. Совпадение объёмов выхода фракции ЛПВП и актиномицина Д свидетельствовало о реальности образования таких комплексов. Комплексообразование было обратимым, поскольку введение в данную систему 500-кратного избытка немеченого препарата приводило к вытеснению радиоактивной метки из комплексов с ЛПВП. Получены основные физико-химические характеристики взаимодействия ЛПВП и аполипопротеина А-I с актиномицином Д. Константы ассоциации были порядка 10^5 M^{-1} , а количество центров связывания

для препарата составило 26 для ЛПВП и 12 для аполипопротеина А-I. Использование ЛПВП в качестве транспортной формы актиномицина Д в органы и ткани организма было продемонстрировано в опытах на животных с внутривенным введением комплексов ЛПВП с меченым актиномицином Д. Показано, что через 30 мин после введения меченого препарата в комплексе с ЛПВП наибольшая удельная радиоактивность была обнаружена в надпочечниках, затем в печени и почках. Как минимум, вдвое меньшее содержание меченого препарата наблюдали в легких, жировой ткани, тимусе и селезенке. Совсем слабое поглощение метки отмечено в ткани миокарда. Полученные результаты позволяют считать реальной возможность использования ЛПВП в качестве транспортной формы актиномицина Д в клетки организма.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Lacko A.G., Nair M., Prokai L., McConathy W.J. Prospects and challenges of the development of lipoprotein-based formulations for anti-cancer drugs. *Expert Opin Drug Deliv.* 2007; 4 (6): 665–675. doi: 10.1517/17425247.4.6.665.
2. Glickson J.D., Lund-Katz S., Zhou R., Choi H., Chen I.W., Li H., Corbin I., Popov A.V., Cao W., Song L., Qi C., Marotta D., Nelson D.S., Chen J., Chance B., Zheng G. Lipoprotein nanoplatfor for targeted delivery of diagnostic and therapeutic agents. *Mol Imaging.* 2008; 7 (2): 101–110.
3. Lenz M., Miede W.P., Vahrenwald F., Bruchelt G., Schweizer P., Gierger R. Cholesterol based antineoplastic strategies. *Anticancer Res.* 1997; 17 (2A): 1143–1146.
4. Masquelier M., Tirzitis G., Peterson C.O., Palsson M., Amolins A., Plotniece M., Plotniece A., Makarova N., Vitols S.G. Plasma stability and cytotoxicity of lipophilic daunorubicin derivatives incorporated into low density lipoproteins. *Eur J Med Chem.* 2000; 35 (4): 429–438.
5. Nikanjam M., Gibbs A.R., Hunt C.A., Budinger T.F., Forte T.M. Synthetic nano-LDL with paclitaxel oleate as a targeted drug delivery vehicle for glioblastoma multiforme. *J Control Release.* 2007; 124 (3): 163–171. doi: 10.1016/j.jconrel.2007.09.007.
6. Teixeira R.S., Valduga C.J., Benvenuti L.A., Schreier S., Maranhão R.C. Delivery of daunorubicin to cancer cells with decreased toxicity by association with a lipidic nanoemulsion that binds to LDL receptors. *J Pharm Pharmacol.* 2008 Oct; 60 (10): 1287–95. doi: 10.1211/jpp/60.10.0004.
7. Kader A., Pater A. Loading anticancer drugs into HDL as well as LDL has little affect on properties of complexes and enhances cytotoxicity to human carcinoma cells. *J Control Release.* 2002; 80 (1–3): 29–44.
8. Mo Z.C., Ren K., Liu X., Tang Z.L., Yi G.H. A high-density lipoprotein-mediated drug delivery system. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016 Nov 15; 106 (Pt A): 132–147. doi: 10.1016/j.addr.2016.04.030.
9. Yuan Y., Wen J., Tang J., Kan Q., Ackermann R., Olsen K., Schwendeman A. Synthetic high-density lipoproteins for delivery of 10-hydroxycamptothecin. *Int J Nanomedicine.* 2016; 11: 6229–6238. doi: 10.2147/IJN.S112835.

10. Hatch F.T., Lees R.S. Practical method for plasma lipoprotein analysis. *Adv. Lipid Res.* 1968; 6: 2–68.
11. Attalah N.A., Lata G.F. Steroid-protein interactions studied by fluorescence quenching. *Biochem Biophys Acta.* 1968; 168 (2): 321–333.
12. Панин Л.Е., Поляков Л.М., Усынин И.Ф., Суменкова Д.В., Князев Р.А. Влияние кортикостероидов в комплексе с аполипопротеином А-1 на биосинтез белка в культуре гепатоцитов. Проблемы эндокринологии. 2009; 3: 45–47. [Panin L.E., Polyakov L.M., Usynin I.F., Sumenkova D.V., Knyazev R.A. Influence of corticosteroids in complex with apolipoprotein A-I on protein biosynthesis in hepatocyte culture. *Problems of endocrinology.* 2009; 3: 45–47. (in Russian)].
13. Azhar S., Nomoto A., Leers-Sucheta S., Reaven E. Simultaneous induction of an HDL receptor protein (SR-BI) and the selective uptake of HDL-cholesteryl esters in a physiologically relevant steroidogenic cell model. *J Lipid Res.* 1998; 39 (8): 1616–1628.
14. Azhar S., Reaven E. Scavenger receptor class BI and selective cholesteryl ester uptake: partners in the regulation of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2002; 195 (1–2): 1–26.
15. Soine P.J., Blanke R.V., Guzelian P.S., Schwartz C.C. Preferential binding of chlorocholesterol to the protein and high density lipoprotein fractions of plasma from humans and other species. *J Toxicol Environ Health.* 1982; 9 (1): 107–118. doi: 10.1080/15287398209530146.
16. Fluiter K., Sattler W., De Beer M.C., Connell P.M., van der Westhuijzen D.R., van Berkel T.J. Scavenger receptor BI mediates the selective uptake of oxidized cholesterol esters by rat liver. *J Biol Chem.* 1999; 274 (13): 8893–8899.
17. Yang H., Fogo A.B., Kon V. Kidneys: key modulators of high-density lipoprotein levels and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2016 May; 25 (3): 174–9. doi: 10.1097/MNH.0000000000000217.
18. Glass C.K., Pittman R.C., Keller G.A., Steinberg D. Tissue sites of degradation of apoprotein A-I in the rat. *J Biol Chem.* 1983; 258 (11): 7161–7167.

Поступила/Received 25.06.2018
Принята в печать/Accepted 15.10.2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Поляков Лев Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: plm@niibch.ru. SPIN-код: 4600-3258.

Князев Роман Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: Knjazev_roman@mail.ru. SPIN-код: 7401-5637.

Рябенко Александр Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: borrelia@mail.ru. SPIN-код: 7468-5413.

Трифорова Наталья Викторовна, младший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: nataliya-tverdohleb@yandex.ru. SPIN-код: 4718-7998.

Котова Мария Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии, Научно-исследовательский институт биохимии ФИЦ ФТМ (г. Новосибирск, Россия). E-mail: zerokiri@mail.ru. SPIN-код: 3958-1142.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Lev M. Polyakov, MD, Professor, Head of the Laboratory of Medical Biotechnology, Institute of Biochemistry FRC FTM (Novosibirsk, Russia). E-mail: plm@niibch.ru.

Roman A. Knyazev, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Medical Biotechnology, Institute of Biochemistry FRC FTM (Novosibirsk, Russia). E-mail: Knjazev_roman@mail.ru.

Alexandr V. Ryabchenko, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Medical Biotechnology, Institute of Biochemistry FRC FTM (Novosibirsk, Russia). E-mail: borrelia@mail.ru.

Nataliya V. Trifonova, Researcher, Laboratory of Medical Biotechnology, Institute of Biochemistry FRC FTM (Novosibirsk, Russia). E-mail: nataliya-tverdohleb@yandex.ru.

Mariya V. Kotova, Researcher, Laboratory of Medical Biotechnology, Institute of Biochemistry FRC FTM (Novosibirsk, Russia). E-mail: zerokiri@mail.ru.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.