

УДК: 615.225



## 11-АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПЕПТИД, ИМИТИРУЮЩИЙ СТРУКТУРУ А-СПИРАЛИ В ЭРИТРОПОЭТИНА, УЛУЧШАЕТ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ, НО СТИМУЛИРУЕТ ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ У КРЫС

М.В. Корокин<sup>1</sup>, В.О. Солдатов<sup>1</sup>, А. Титце<sup>2</sup>, И.В. Голубев<sup>1</sup>, А.Е. Белых<sup>3</sup>, М.В. Кубекина<sup>4</sup>,  
О.А. Пученкова<sup>1</sup>, Т.А. Денисюк<sup>3</sup>, В.В. Гуреев<sup>1</sup>, Т.Г. Покровская<sup>1</sup>, О.С. Гудырев<sup>1</sup>, М.А. Жученко<sup>5</sup>,  
М.А. Затолокина<sup>3</sup>, М.В. Покровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»  
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

<sup>2</sup> Гётеборгский университет, факультет химии и молекулярной биологии,  
отдел органической и медицинской химии  
41271, Швеция. Гетеборг, ул. Медицины Арегатан, 9С

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
305041, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

<sup>4</sup> ФГБУН «Институт биологии гена РАН»  
119334, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 34/5

<sup>5</sup> НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика  
123098, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 1

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Получено 06.12.2019

Рецензия (1) 20.12.2019

Рецензия (2) 26.12.2019

Принята к печати 27.12.2019

**Цель.** 11-аминокислотный пептид, имитирующий природную структуру  $\alpha$ -спирали В эритропоэтина (Р- $\alpha$ В) обладает специфическим сродством к гетеродимерному комплексу EPOR/CD131. В нашем исследовании мы решили проверить может ли Р- $\alpha$ В позиционироваться в качестве средства для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Wistar. Дисфункцию эндотелия моделировали путем 7-дневного внутрибрюшинного введения L-NAME в дозе 2,5 мг/100 г. В качестве терапии использовали Р- $\alpha$ В или эритропоэтин (ЕРО) в дозе 2,5 мкг/100 г  $\times$  3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г. Функцию эндотелия оценивали путем проведения эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации. В дополнение к этому проводили гистологическую оценку состояния стенки абдоминальной аорты и анализ экспрессии генов eNos, Tnf и Il-1 $\beta$ . Для оценки протромботических свойств Р- $\alpha$ В и ЕРО вводили в дозах 2,5 и 5 мкг/100 г (3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г и 15 мкг/100 г, соответственно) и на 8-й день оценивали время железа (III) хлорид-индуцированного тромбоза сонной артерии.

**Результаты.** Р- $\alpha$ В и ЕРО не влияют на L-NAME-индуцированную гипертензию, однако улучшают функцию эндотелия, о чем свидетельствуют результаты функциональных проб на эндотелийзависимую и эндотелийнезависимую вазодилатацию, а также гистологическая картина аорты. При этом Р- $\alpha$ В демонстрирует значительно большую эндотелиопротективную активность, снижая коэффициент эндотелиальной дисфункции с  $5,1 \pm 0,15$  до  $2,72 \pm 0,12$ . Кроме того, Р- $\alpha$ В значительно увеличил экспрессию eNos, и снизил уровень экспрессии мРНК генов Tnf и Il-1 $\beta$ . При проведении железа (III) хлорид-индуцированного тромбоза сонной артерии обнаружено, что Р- $\alpha$ В (в дозе 5 мкг/100 г  $\times$  3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г) обладает меньшей, чем ЕРО, но статистически значимой протромботической активностью.

**Заключение.** Р- $\alpha$ В может позиционироваться в качестве атеропротектора ввиду способности предотвращать гибель эндотелиоцитов, а также снижать ремоделирование и провоспалительную активацию сосудистой стенки. Тем не менее протромботические свойства Р- $\alpha$ В ограничивают его применение в качестве средства для профилактики и лечения атеросклероз-ассоциированных заболеваний.

**Ключевые слова:** атеросклероз, эритропоэтин, крысы, Р- $\alpha$ В, цибенитид, эндотелий

**Список сокращений:** Р- $\alpha$ В –  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина; ЕРО – эритропоэтин; L-NAME – N-нитро-L-аргинин метиловый эфир; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ЭД – эндотелиальная дисфункция; КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление.

**Для цитирования:** М.В. Корокин, В.О. Солдатов, А. Титце, И.В. Голубев, А.Е. Белых, М.В. Кубекина, О.А. Пученкова, Т.А. Денисюк, В.В. Гуреев, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, М.А. Жученко, М.А. Затолокина, М.В. Покровский. 11-аминокислотный пептид, имитирующий структуру  $\alpha$ -спирали в эритропоэтина, улучшает функцию эндотелия, но стимулирует тромбообразование у крыс. *Фармация и фармакология.* 2019;7(6): 312-320. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-312-320

© М.В. Корокин, В.О. Солдатов, А. Титце, И.В. Голубев, А.Е. Белых, М.В. Кубекина, О.А. Пученкова, Т.А. Денисюк, В.В. Гуреев, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, М.А. Жученко, М.А. Затолокина, М.В. Покровский, 2019

**For citation:** M.V. Korokin, V.O. Soldatov, A.A. Tietze, I.V. Golubev, A.E. Belykh, M.V. Kubekina, O.A. Puchenkova, T.A. Denisjuk, V.V. Gureyev, T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, M.A. Zhuchenko, M.A. Zatolokina, M.V. Pokrovskiy. 11-amino acid peptide imitating the structure of erythropoietin  $\alpha$ -helix b improves endothelial function, but stimulates thrombosis in rats. *Pharmacy & Pharmacology.* 2019;7(6): 312-320. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-6-312-320

## 11-AMINO ACID PEPTIDE IMITATING THE STRUCTURE OF ERYTHROPOIETIN A-HELIX B IMPROVES ENDOTHELIAL FUNCTION, BUT STIMULATES THROMBOSIS IN RATS

M.V. Korokin<sup>1</sup>, V.O. Soldatov<sup>1</sup>, A.A. Tietze<sup>2</sup>, I.V. Golubev<sup>1</sup>, A.E. Belykh<sup>3</sup>, M.V. Kubekina<sup>4</sup>, O.A. Puchenkova<sup>1</sup>, T.A. Denisyuk<sup>3</sup>, V.V. Gureyev<sup>1</sup>, T.G. Pokrovskaya<sup>1</sup>, O.S. Gudyrev<sup>1</sup>, M.A. Zhuchenko<sup>5</sup>, M.A. Zatolokina<sup>3</sup>, M.V. Pokrovskiy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Belgorod State National Research University  
85, Pobeda St., Belgorod, Russia 308015

<sup>2</sup>University of Gothenburg, Department of Chemistry and Molecular Biology,  
Department of Organic and Medicinal Chemistry.  
PO Box 462 9 C, Medicine Aregatan St., Göteborg, Sweden

<sup>3</sup>Kursk State Medical University  
3, Karl Marx St., Kursk, Russia 305041

<sup>4</sup>Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences  
34/5, Vavilov St., Moscow, Russia 119334

<sup>5</sup>Scientific Research Centre, Kurchatov Institute  
1, Akademik Kurchatov Square, Moscow, Russia 123098

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Received 6 December 2019

Review (1) 20 December 2019

Review (2) 26 December 2019

Accepted 27 December 2019

An 11-amino acid peptide imitating the natural structure of B erythropoietin  $\alpha$ -helix (P- $\alpha$ B), has a specific affinity to the heterodimeric complex EPOR/CD131.

**The aim** of the study was to test whether P- $\alpha$ B can be positioned as a preventing and treating agent for cardiovascular diseases.

**Materials and methods.** The study was performed on sexually mature male Wistar rats. Endothelial dysfunction was modulated by a 7-days intraperitoneal administration of L-NAME at the dose of 2.5 mg/100 g. P- $\alpha$ B, or erythropoietin (EPO), was used for therapy at the dose of 2.5  $\mu$ g/100 g  $\times$  3 times for 7 days, the total dose was 7.5  $\mu$ g/100 g. The function of endothelium was estimated by an endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation. In addition, a histological assessment of the abdominal aortic wall state and the analysis of *eNos*, *Tnf* and *Il-1 $\beta$*  genes expression were performed. To estimate prothrombotic properties, P- $\alpha$ B and EPO were administered, at the doses of 2.5 and 5  $\mu$ g/100 g (3 times a day for 7 days, the total doses were 7.5  $\mu$ g/100 g and 15  $\mu$ g/100 g, respectively) and on the 8<sup>th</sup> day, the time of ferric (III) chloride-induced carotid artery thrombosis was estimated.

**Results.** The results of the functional tests for endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation, as well as the histological picture of the aorta have evidenced that P- $\alpha$ B and EPO do not affect L-NAME-induced hypertension but improve the endothelium function. At the same time, P- $\alpha$ B shows a significantly higher endothelial-protective activity, reducing the coefficient of endothelial dysfunction from 5.1 $\pm$ 0.15 to 2.72 $\pm$ 0.12. In addition, P- $\alpha$ B has significantly increased the expression of *eNos* and reduced the expression level of *Tnf* and *Il-1 $\beta$*  mRNA genes. Carrying out Ferric (III) chloride-induced carotid artery thrombosis has revealed that P- $\alpha$ B (5  $\mu$ g/100 g  $\times$  3 times a day for 7 days, total dose was 15  $\mu$ g/100 g) has a lower but statistically significant prothrombotic activity than EPO.

**Conclusion.** P- $\alpha$ B can be positioned as an atheroprotector because of its ability to prevent the death of endothelial cells, as well as to reduce remodeling and proinflammatory activation of the vascular wall. However, the prothrombotic properties of P- $\alpha$ B limit its use as a preventing and treating agent for atherosclerosis-associated diseases.

**Keywords:** atherosclerosis, erythropoietin, rats, P- $\alpha$ B, cibemotide, endothelium

**Abbreviations:** P- $\alpha$ B –  $\alpha$ -helix of B erythropoietin; EPO – erythropoietin; L-NAME – N( $\omega$ )-nitro-L-arginine methyl ester; eNOS – endothelial nitric oxide synthase; ED – endothelial dysfunction; EDC – endothelial dysfunction coefficient; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure.

### ВВЕДЕНИЕ

Перманентный рост атеросклероз-ассоциированных заболеваний в общей структуре причин смертности и инвалидизации населения развитых стран диктует необходимость их углубленного изучения и совершенствования методов коррекции [1, 2]. При этом опыт, накопленный, начиная с первых работ Н.Н. Аничкова [3], демонстрирует, что атеросклеротическое повреждение сосудистой стенки является длительным многофакторным процессом [4]. В соответствии с современным пониманием патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, интеграль-

ную роль в развитии атеросклероза и связанных с ним осложнений играет эндотелиальная дисфункция (ЭД) [5–7]. Изменения в спектре секретируемых и экспрессируемых эндотелием молекул и нарушение его барьерной функции в конечном итоге приводят к инфильтрации сосудистой стенки атероматозными массами и образованию атеросклеротических бляшек [8]. Возникающий патогенетический каскад становится актуальной мишенью для фармакологического воздействия [1, 2].

Эффективным способом предотвратить повреждение эндотелия является применение молекул

с универсальной цитопротективной активностью [9]. Одной из таких молекул является эндогенный гликопротеин эритропоэтин (ЕРО) [10]. Ряд проведенных нами работ продемонстрировал, что ЕРО способен значительно улучшать морфофункциональное состояние сосудистой стенки при моделировании ЭД у крыс [11–14]. Тем не менее, многолетний опыт показывает, что многообещающие результаты доклинических исследований ЕРО слабо транслируются в клиническую реальность и его главной нишей остается лечение анемии [15–17].

В 2004 г. Michael Brines и др. [17] доказали, что негематопозитические эффекты ЕРО реализуются через гетеродимерный комплекс EPOR/CD131. Обнаружение того факта, что эритропоэтические и тканезащитные свойства ЕРО реализуются посредством двух различных рецепторных систем, привело к созданию предпосылок для принципиально нового направления в поиске инновационных молекул с цитопротекторной активностью. В 2008 г. те же авторы [18] представили обобщенные результаты изучения цитопротекторной активности 11-аминокислотного пептида на основе  $\alpha$ -спирали В эритропоэтина, имитирующей пространственную часть молекулы, которая взаимодействует с гетеродимерным EPOR/CD131 рецептором, но не взаимодействует с гомодимерным EPOR/EPOR рецептором. Данное соединение (P- $\alpha$ V, цибенитид, PubChem CID: 91810664) продемонстрировал способность существенно улучшать морфофункциональное состояние тканей при диабетическом отеке сетчатки, ишемии-реперфузии почек, а также значительно улучшать когнитивные функции в модели галантамин-индуцированной амнезии, при отсутствии какого-либо влияния на эритропоэз.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ** – оценка эндотелиопротективной и атеропротективной активности P- $\alpha$ V, а также оценка протромботических свойств данной молекулы для выявления препятствий в клиническом применении P- $\alpha$ V в качестве средства для лечения и профилактики сердечно-сосудистых катастроф.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Животные

Животные были получены из питомника Charles River Laboratories (Массачусетс, США). Содержались в центре доклинических исследований НИИ Фармакологии живых систем. После прохождения 14-дневного карантинного режима, крысы были стратифицированы по массе и рассажены по 9 особей в отдельные конвенциональные клетки в соответствии с принадлежностью к экспериментальной группе. До и во время выполнения исследования животные содержались в помещениях с искусственным освещением (режим 12 ч/12 ч) при температуре 21–23°C, влажности 38–50% и имели свободный доступ к корму и воде. Номер заключения независимого этического комитета 06-09/02-1 от 16.05.2019 г.

Эксперимент был выполнен на 76 крысах-самцах (200–220 г) линии Wistar. При работе соблюдались требования Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 24.06.1998 года, правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 53434-2009), директивы Европейского сообщества (86/609 EC) и Правил лабораторной практики, принятых в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 708 от 29.08.2010 г.).

### Моделирование эндотелиальной дисфункции

Дисфункцию эндотелия моделировали путем 7-дневного внутривентриального введения блокатора эндотелиальной синтазы оксида азота L-NAME (Sigma Aldrich, США) в дозе 2,5 мг/100 г. Для оценки эндотелиопротективного эффекта P- $\alpha$ V в сравнении с ЕРО из 36 крыс-самцов линии Wistar (200–220 г) были сформированы 4 группы по 9 животных:

- 1) ЭД + ЕРО (ООО «Фармапарк») (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 2) ЭД + P- $\alpha$ V (ООО «Фармапарк») (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 3) ЭД + Растворитель (0,9% раствор натрия хлорида 0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г);
- 4) Интактные + Растворитель (0,9% раствор натрия хлорида 0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г).

Ровно через 24 часа после последнего введения L-NAME каждому животному под наркозом (Золазепам (Virbac, Франция) 6 мг/100 г + Хлоралгидрат (Panreac, Испания)) катетеризировали левую сонную артерию для внутрисосудистого измерения артериального давления с помощью аппарата Biopac MP150. На фоне непрерывного измерения артериального давления стимулировали эндотелийзависимую (Ацетилхолин 4 мкг/100 г) и эндотелийнезависимую (Натрия нитропруссид, 3 мкг/100 г) вазодилатацию. Вазоактивные агенты вводили с интервалом 15 минут через катетер, установленный в бедренной вене. При выполнении всех манипуляций животным был присвоен уникальный код и хирург не знал принадлежность животного к группе. Отношение площади над кривой падения давления при введении натрия нитропрussaда к площади над кривой падения давления при введении ацетилхолина принимали за коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД).

После проведения функциональных сосудистых проб животных этаназировали обескровливанием и забирали абдоминальный отдел аорты для гистологических исследований, а также оценки экспрессии мРНК генов *eNos*, *Il-1b* и *Tnf*.

### Гистология

Образцы абдоминальной аорты фиксировали в 10%-растворе формальдегида с последующей залив-

кой в парафин в автомате карусельного типа «STP-120» (Microm International GmbH, Германия). Заливку блоков со стандартной ориентацией кусочков осуществляли на станции для заливки биологического материала в парафин «EC 350» (Microm International GmbH, Германия). Для обеспечения стандартизации заливку в парафин осуществляли в виде мультиблоков по 5-6 кусочков. Срезы для гистологического исследования толщиной 5 мкм изготавливали на полуавтоматическом ротационном микротоме с системой транспортировки и расправления срезов «HM 340E» (Microm International GmbH, Германия). Окраску гематоксилином и эозином осуществляли в автомате для окраски гистологических срезов и мазков (Microm International GmbH, Германия). Описательное исследование гистологических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия).

#### Определение экспрессии eNos, Tnf и Il-1 $\beta$ методом количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР)

Ткань аорты забирали, гомогенизировали и 10 минут инкубировали при 37°C в растворе «Extract RNA». После лизирования образца в реагенте его подвергли хлороформной чистке, а образовавшийся осадок РНК промывали изопропиловым спиртом и 70%-ным этиловым спиртом. Концентрацию полученной РНК измеряли на спектрофотометре IMPLENNanoPhotometer®. Выход РНК составлял примерно 1000 нг/мкл.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLVRTSK021 в соответствии с протоколом фирмы-производителя (Evrogen). Смесь аккуратно перемешивали и в течение 2 минут прогревали при 70°C для расплавления вторичных структур РНК и последующего отжига праймера OligoDT. После переносили образцы в лед. Всю реакционную смесь инкубировали 60 мин при 40°C в термоциклере T100™ ThermalCycler (Bio-Rad). Для остановки реакции прогревали смесь при 70°C в течение 10 минут. Полученную кДНК разводили до концентрации 1 нг/мкл.

Уровень экспрессии гена оценивали относительно значений референсного гена Gapdh. Расчет экспрессии в конкретной точке производился по формуле: Экспрессия гена =  $2^{-\Delta Ct}$  [(Ct(Gapdh)-Ct(Ген интереса))] (таб. 1).

#### Изучение протромботической активности

40 крыс, были разделены на 5 равных групп:

- 1) EPO (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);
- 2) EPO (5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г);
- 3) P- $\alpha$ B (2,5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 7,5 мкг/100 г);

4) P- $\alpha$ B (5 мкг/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 15 мкг/100 г);

5) 0,9% раствор натрия хлорида (0,1 мл/100 г 3 раза в течение 7 дней, суммарная доза 0,3 мл/100 г).

Через 24 часа после последней инъекции препарата (растворителя для контрольной группы) животных наркотизировали и фиксировали к операционному столу. Затем выполняли разрез длиной 10 мм слева от срединной линии шеи, выделяли общую сонную артерию и аккуратно отделяли ее от окружающих тканей, не повреждая блуждающий нерв. С использованием ультразвукового доплерографа Минимакс-Допплер (Санкт-Петербург, Россия) на выделенной артерии определяли точку наилучшего сигнала, после чего прикладывали ватку, смоченную 50% раствором железа (III) хлорида и засекали время до снижения исходного сигнала до  $\approx 10\%$ . При выполнении всех манипуляций животным был присвоен уникальный код и хирург не знал принадлежность животного к группе.

#### Статистический анализ

Статистическую обработку проводили с использованием программной среды вычислений R. Характер распределения признаков в статистической выборке определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка и критерия Шпигельхальтера (библиотека normtest), оценку равенства дисперсий – с помощью критерия Левене (библиотека lawstat). В зависимости от типа распределения признаков и равенства дисперсий значимость полученных результатов оценивали с применением параметрического (ANOVA) или непараметрического (критерий Краскела-Уоллиса) однофакторного дисперсионного анализа, а в качестве post-hoc анализа для выявления различий при межгрупповых сравнениях использовали непарный t-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни, соответственно, с поправкой Бенджамини-Хохберга на множественную проверку гипотез. Результаты считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

##### Оценка эндотелиальной дисфункции

8-дневное введение L-NAME (2,5 мг/100 г) привело к значительному росту артериального давления. При этом терапия EPO и P- $\alpha$ B статистически значимо не повлияла на значения систолического и диастолического артериального давления (таб. 2).

В то же время проведение функциональных проб с ацетилхолином и натрия нитропруссидом выявило значимый эффект терапии в отношении NO-продуцирующей функции эндотелия (рис.1А). Группа, получавшая L-NAME и 0,9% раствор натрия хлорида, продемонстрировала почти 5-кратное увеличение КЭД ( $5,1 \pm 0,15$  у.е. при  $1,21 \pm 0,09$  у интактных животных). В группе с применением EPO и P- $\alpha$ B этот показатель составил  $3,81 \pm 0,14$  и  $2,72 \pm 0,12$ , соответственно.

Таблица 1 – Праймеры для определения экспрессии мРНК целевых и референсных генов

Название праймеров	Последовательность нуклеотидов 5'->3'	Температура плавления (°C)	Длина ПЦР-продукта (пар нуклеотидов)
Il-1b F	TCGTGCTGTCTGACCCATGT	61,47	126
Il-1b R	AGGCCACAGGGATTTTGTCG	60,61	
eNos F	GCCAACTCAAGGCAGGAGAC	60,96	129
eNos R	ATCCCCGGAAGGGTGAATA	60,99	
Tnf-alpha F	TGAACTTCGGGGTGATCGGT	61,19	152
Tnf-alpha R	CGCTTGGTGGTTTGCTACGA	61,2	
Gapdh F	AGTGCCAGCCTCGTCTCATA	60,68	141
Gapdh R	TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	61,11	

Таблица 2 – Влияние EPO и 11-аминокислотного пептида P-αB на артериальное давление крыс при моделировании L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции

Группа	САД (мм рт.ст.)	ДАД (мм рт.ст.)
Интактные	121,5±3,4	97,5±3,1
ЭД + NaCl (0,9%)	189,9±4,8	133,2±4,1
ЭД + EPO	186,0±5,1	133,2±4,5
ЭД + P-αB	190,3±4,3	134,3±3,9

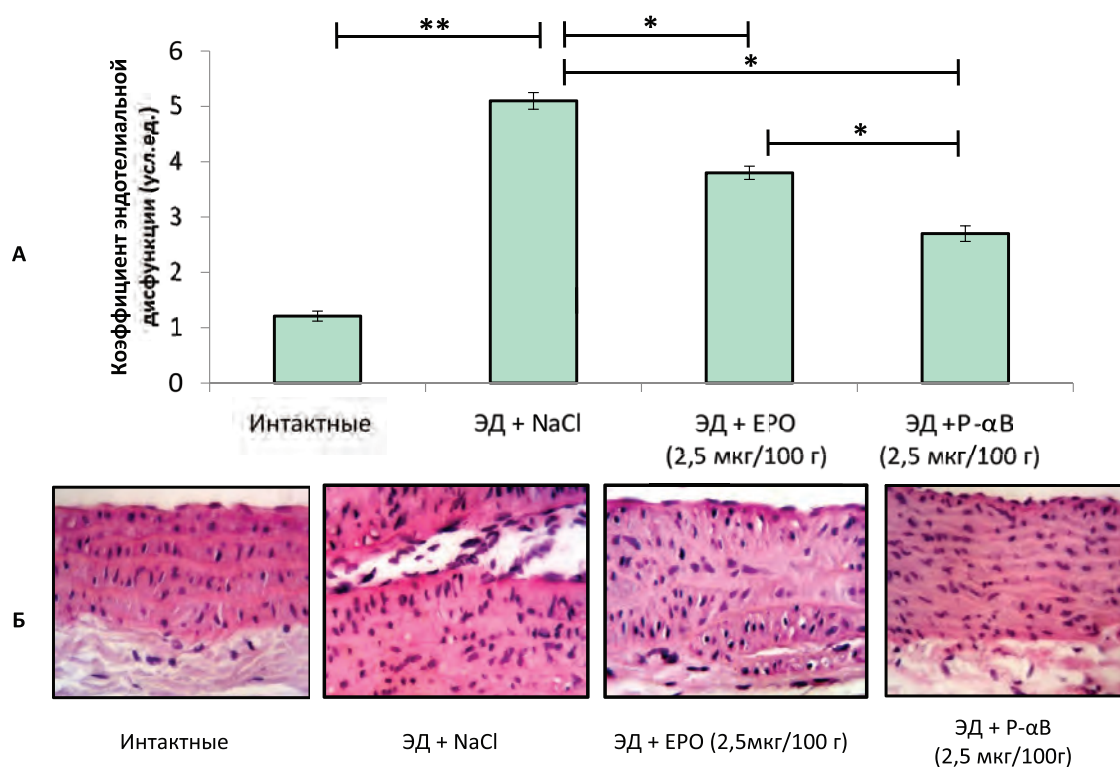


Рисунок 1 – Морфофункциональное состояние сосудистой стенки

Примечание: А) Влияние EPO и P-αB на коэффициент эндотелиальной дисфункции, рассчитанный как отношение площади над кривой падения давления при проведении эндотелийнезависимой вазодилатации к площади над кривой падения давления при проведении эндотелийзависимой вазодилатации; Б) Гистологическая картина стенки абдоминальной аорты. Интактные – Эндотелиальная выстилка непрерывна, эндотелиоциты плоские. Признаков отека и инфильтрации нет. Архитектоника не нарушена, соотношение слоев сохранено; ЭД + 0,9% раствор натрия хлорида – Наблюдается отек наружной оболочки, круглоклеточная инфильтрация средней оболочки и вакуольная дистрофия гладких миоцитов. Плотность клеток высокая. Соотношение слоев изменено, в сравнении с интактными животными, эндотелиоциты набухшие, большинство из них слущено с поверхности базальной мембраны; ЭД + EPO – Наблюдается полиморфноклеточная инфильтрация наружной оболочки сосуда, на фоне нарушений архитектоники средней оболочки и начальными признаками фиброза; ЭД + P-αB – В препарате визуализируется полная сохранность архитектоники слоев стенки сосуда. Эндотелиальная выстилка сохранена, эндотелиоциты расположены в один слой на базальной мембране. Признаков периваскулярно-го и периваскулярного отека нет (Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. 400). \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

### Гистологическая картина стенки аорты

При гистологическом исследовании определена аналогичная тенденция, характеризующая эндотелиопротективную активность ЕРО и Р- $\alpha$ В (рис. 1Б).

– L-NAME + 0,9% раствор натрия хлорида. В группе животных с L-NAME-индуцированной ЭД выявлены значительные морфологические изменения в сравнении с интактными животными, которые заключались в наличии признаков периваскулярного и перицеллюлярного отека, воспаления всех оболочек стенки сосуда (аорты). В периваскулярной ткани отмечалось наличие единичных диапедезных кровоизлияний, а в просвете сосуда наличие пристеночных микротромбов. В области эндотелиальной выстилки наблюдалось набухание эндотелиоцитов, смещение их с поверхности базальной мембраны. В небольших участках с сохраненным эндотелием ядра клеток располагались вдоль стенки кровеносного сосуда. В единичных эндотелиоцитах отмечался кариолизис и вакуолизация цитоплазмы, сморщивание клеток, вплоть до их гибели. Имела место круглоклеточная инфильтрация средней и наружной оболочек. В средней оболочке, в гладких миоцитах отмечалась вакуольная дистрофия. В наружной оболочке наблюдалось разволокнение и наличие признаков отека. Плотность клеток как в средней, так и в наружной оболочках высокая.

– L-NAME+ЕРО (2,5 мкг/100 г). В данной группе наблюдалась полиморфноклеточная инфильтрация наружной оболочки сосуда, на фоне незначительных нарушений архитектоники эластических мембран, наличии функционально активных фибробластов (клетки с темно-базофильной цитоплазмой, крупных размеров визуализируемые в центре средней оболочки), что может свидетельствовать о начальных признаках фиброза. Визуализировалось небольшое количество реактивно-измененных гладких миоцитов, расположенных между окончатными эластическими мембранами. При этом, большинство эндотелиоцитов имели уплощенную форму и располагались непрерывно, их ядра ориентированы параллельно базальной мембране.

–L-NAME+ Р- $\alpha$ В (2,5 мкг/100 г). При изучении гистологических срезов в группе животных после фармакологической коррекции Р- $\alpha$ В была выявлена почти полная сохранность архитектоники слоев стенки сосуда. Соотношение толщины слоев не имело визуальных отличий в сравнении с данными интактной группы животных. Наблюдалось сохранение эндотелиальной выстилки, расположение эндотелиоцитов в один слой на базальной мембране, плоская форма клеток и слабо оксифильная цитоплазма. Ядра палочковидной формы, ориентированы вдоль кровеносного сосуда. Признаков перицеллюлярного и периваскулярного отека не визуализировалось.

Выявлена немного повышенная плотность клеток на единице площади среза, однако без признаков деструкции, которая наблюдалась у животных без фармакологической терапии.

### Экспрессия eNos, Tnf и IL-1 $\beta$ по данным количественной ПЦР

При моделировании L-NAME-индуцированной ЭД в сравнении с интактными животными во всех группах выявлено увеличение относительной экспрессии мРНК гена *eNos*. При этом экспрессия eNOS растет в ряду: ЭД+ 0,9% раствор натрия хлорида <ЭД+ЕРО <ЭД+Р- $\alpha$ В. Уровень мРНК генов провоспалительных цитокинов *Tnf* и *IL-1 $\beta$*  характеризовалось наибольшим увеличением в группе ЭД без терапии, а применение ЕРО и Р- $\alpha$ В снижало степень их экспрессии (рис. 2).

### Оценка протромботической активности

При оценке времени наступления жезла (III) хлорида-индуцированного тромбоза у животных, в течение 8 дней, получавших ЕРО и Р- $\alpha$ В, было обнаружено дозозависимое сокращение времени тромбообразования. Более значимый протромботический эффект продемонстрировал ЕРО, который сократил время тромбообразования до  $16,7 \pm 1,2$  мин (2,5 мкг/100 г) и  $14,2 \pm 1,3$  мин (5 мкг/100 г) по сравнению с  $19,5 \pm 0,9$  мин в группе без применения препаратов. Р- $\alpha$ В в дозе 1,25 мкг/100 г статистически значимо не повлиял на время тромбообразования, а в дозе 2,5 мкг/100 г ускорил тромбоз сонной артерии до  $16,2 \pm 1,1$  мин (рис. 3).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Наша работа показала, что 11-аминокислотный пептид Р- $\alpha$ В, обладающий избирательным сродством к гетеродимерному рецептору EPOR/CD131, способен снижать повреждение эндотелия при L-NAME-индуцируемом дефиците оксида азота. Блокада eNOS привела к стойкой гипертензии, спровоцировавшей морфологические изменения стенки сосудов, которые выражались в ее гипертрофии, некрозе и нарушении архитектоники.

С использованием молекулярно-биологического анализа мы обнаружили повышение экспрессии мРНК гена *eNos*, что по всей видимости является компенсаторной реакцией на гипертензию. Наряду с этим вырос уровень провоспалительных цитокинов – TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Троекратное применение Р- $\alpha$ В в дозе 2,5 мкг/100 г не повлияло на артериальную гипертензию, связанную с введением L-NAME, однако привело к более выраженному увеличению экспрессии мРНК гена *eNos*. Возможно, это объясняется тем, что за счет антиапоптотических свойств Р- $\alpha$ В повысил количество функционирующих клеток, которые способны синтезировать eNOS.

Примечательно, что в группе с применением ЕРО, несмотря на снижение КЭД, уровень мРНК гена *eNos* достоверно не увеличился относительно контроля. Это согласуется с данными, полученными Sultan F. и др., демонстрирующими, что ЕРО, способен угнетать экспрессию eNOS [19]. По всей видимости, это свойство качественно отличает вазотропную активность Р- $\alpha$ В от других препаратов эритропоэтинового ряда.

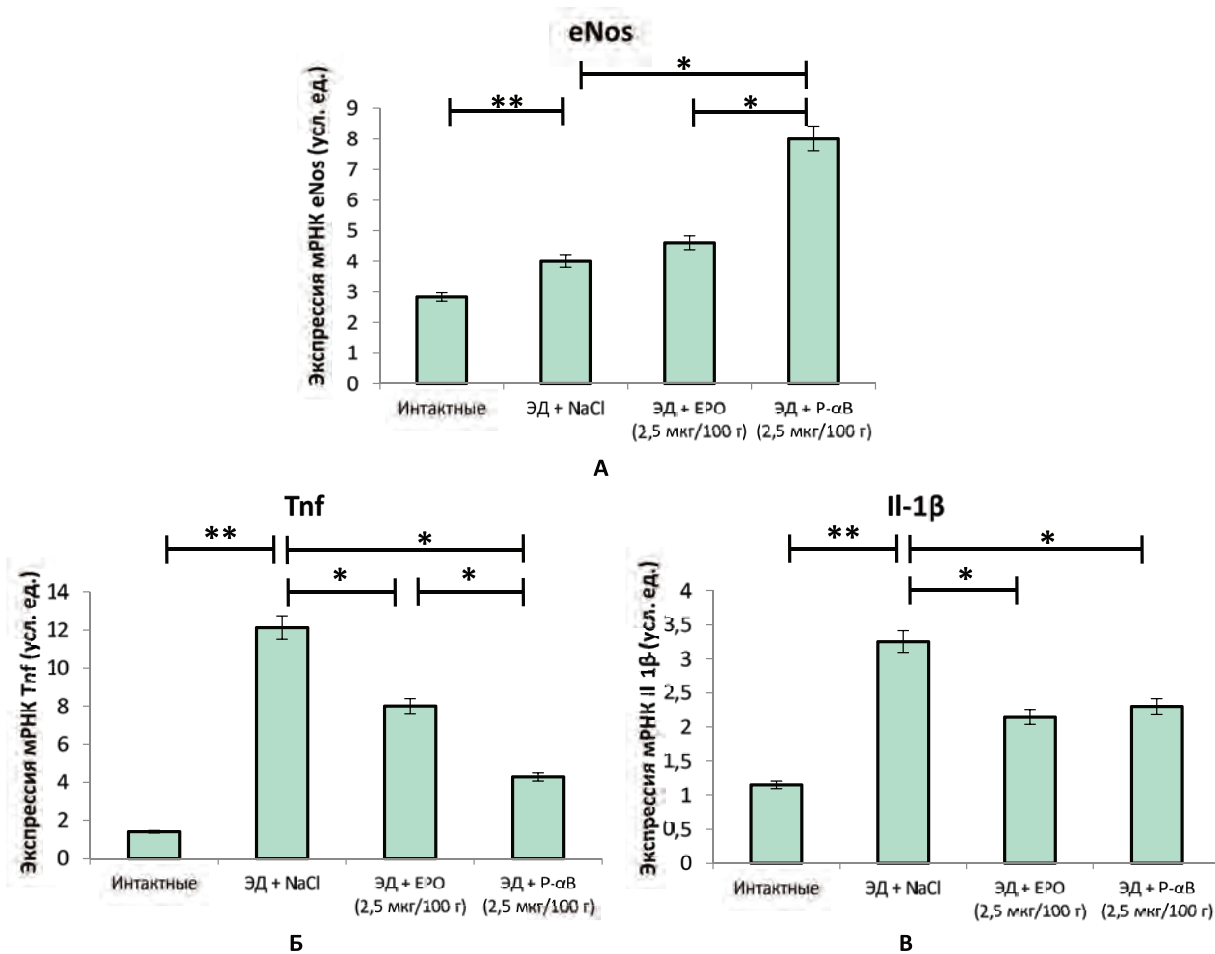


Рисунок 2 – Влияние ЕРО и Р-αВ на экспрессию мРНК генов eNos, Tnf и II-1β в абдоминальной аорте на фоне моделирования L-NAME-индуцированной ЭД (по данным количественной ПЦР)  
Примечание: \* – p≤0,05; \*\* – p≤0,01.

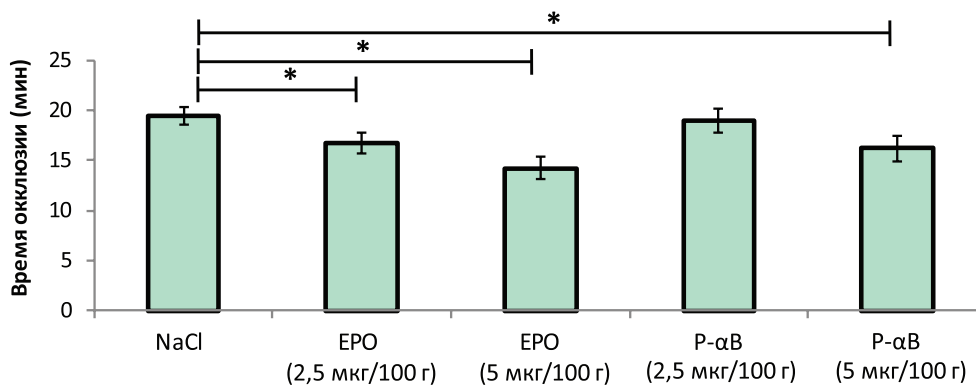


Рисунок 3 – Влияние ЕРО и Р-αВ на время FeCl3-индуцированной тромботической окклюзии сонной артерии (снижение доплерографического сигнала до уровня ≈10% от исходного)  
Примечание: \* – p≤0,05.

Полученные результаты также свидетельствуют, что P- $\alpha$ V способен предотвращать воспалительную активацию в модели L-NAME-индуцированной ЭД. Этот феномен скорее всего связан как с антиапоптотической активностью соединения, так и с собственной противовоспалительной активностью молекул эритропоэтинового ряда. Данное свойство очень значимо для потенциального атеропротектора, поскольку снижение цитокриновой активации необходимо для стабилизации атеросклеротической бляшки и предупреждения ее разрыва.

Наконец, последний этап исследования с использованием FeCl<sub>3</sub>-индуцированного тромбоза сонной артерии у крыс выявил, что P- $\alpha$ V обладает протромботическими свойствами. Протромботическая активность P- $\alpha$ V выражена в меньшей степени, чем у EPO и в нашем исследовании не проявилась в тех дозах, в которых он демонстрирует эндотелиопротективное действие (2,5 мкг/100г  $\times$  3 в течение 7 дней). Тем не менее, данное свойство является значимым ограничением в позиционировании P- $\alpha$ V в качестве средства для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с атеросклерозом.

Мы видим перспективу в модификации P- $\alpha$ V путем присоединения пептидных мотивов, обладающих антиагрегантной активностью. Для устранения протромботической активности к P- $\alpha$ V могут быть добавлены аминокислотные последовательности Arg-Gly-Asp и Lys-Gly-Asp. Известно, что Arg-Gly-Asp и Lys-Gly-Asp обладают выраженными антиагрегантными свойствами [20–22]. В ряде отечественных работ также были выявлены антипротромботические и

антиагрегантные свойства другого вспомогательного аминокислотного трипептида Pro-Gly-Pro. [23–25]. Кроме того, Pro-Gly-Pro стабилизирует молекулу в биологических средах за счет ингибирования активности протеолитических ферментов [26] и обладает способностью блокировать ангиотензин-превращающий фермент [27], один из важнейших проатерогенных факторов, который катализирует реакцию образования ангиотензина II и способствует ремоделированию сосудистой стенки [28]. Ключевым вопросом остается характер (позиция, линкеры и т.д.) для встраивания данных аминокислотных последовательностей в базисную молекулу. Биоинформатический анализ позволит определить наиболее оптимальные локализации для присоединения трипептидов, позволяющие не влиять на интересующие фармакофоры, сохранив и эндотелиопротективную, и антиагрегантную активность.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

11-аминокислотный пептид, имитирующий  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина, обладает выраженным эндотелиопротективным и, потенциально, атеропротективным действием ввиду способности предотвращать гибель эндотелиоцитов, а также снижать ремоделирование и провоспалительную активацию сосудистой стенки. Тем не менее, протромботическая активность P- $\alpha$ V ограничивает его применение в качестве средства для профилактики и лечения атеросклероз-ассоциированных заболеваний и обуславливает необходимость дальнейших модификаций данной молекулы.

### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполняется при поддержке Минобрнауки России. Соглашение о субсидии № 05.605.21.0109 (уникальный идентификатор соглашения RFMEFI60519X0191).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**М.В. Корокин** – написание статьи, разработка дизайна исследования, пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов стенки аорты; **В.О. Солдатов** – написание статьи, разработка дизайна исследования; **А. Титце** – синтез пептида, анализ литературы; **И.В. Голубев** – введение препаратов животных, моделирование L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции; **А.Е. Белых** – выделение мРНК, проведение реакции обратной транскрипции, анализ экспрессии мРНК генов eNos, Tnf и Il-1 $\beta$ , перевод статьи; **М.В. Кубекина** – выделение мРНК, проведение реакции обратной транскрипции, анализ экспрессии мРНК генов eNos, Tnf и Il-1 $\beta$ , формализация списка литературы, работа с графическим материалом; **О.А. Пученкова** – участие во всех этапах работы с животными, выделение РНК, забор образцов для гистологического исследования; **Т.А. Денисюк** – участие в оценке коэффициента эндотелиальной дисфункции; **В.В. Гуреев** – оценке коэффициента эндотелиальной дисфункции; **Т.Г. Покровская** – консультация по вопросам планирования, методологии и реализации эксперимента; **О.С. Гудырев** – оценка протромботической активности, анализ литературы; **М.А. Жученко** – синтез пептида, анализ литературы; **М.А. Затолокина** – пробоподготовка образцов для гистологического исследования, морфологическое описание срезов стенки аорты; **М.В. Покровский** – идея, планирование исследования, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Глушко А.А., Воронков А.В., Черников М.В. Молекулярные мишени для поиска веществ, обладающих эндотелиопротекторными свойствами (обзорная статья) // Биорганическая химия. 2014. Т. 40. № 5. С. 515–527. DOI: 10.7868/S0132342314050066.
2. Тюренков И.Н., Воронков А.В., Слиецанс А.А., Волотова Е. В. Эндотелиопротекторы - новый класс фармакологических препаратов // Вестник Российской академии медицинских наук. 2012, Т. 67, №7. – С. 50–57. DOI: <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i7.341>
3. Zárate A., Manuel-Apolinar L., Basurto L., De la Chesnaye E., Saldívar I. Cholesterol and atherosclerosis. Historical considerations and treatment // Arch Cardiol Mex. – 2016. – V. 86, N 2. – P. 163–9. doi: 10.1016/j.acmx.2015.12.002. Epub 2016 Jan 7.
4. Orekhov A.N., Poznyak A.V., Sobenin I.A., Nikifirov N.N., Ivanova E.A. Mitochondrion as a selective target for treatment of atherosclerosis: Role of mitochondrial DNA mutations and defective mitophagy in the pathogenesis of atherosclerosis and chronic inflammation // Curr Neuropharmacol. 2019. doi: 10.2174/1570159X17666191118125018. [Epub ahead of print].
5. Marzetti E., Calvani R., Cesari M., Buford T.W., Lorenzi M., Behnke B.J., Leeuwenburgh C. Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging: from signaling pathways to clinical trials //



- Int J Biochem Cell Biol. – 2013. – V. 45, N 10. – P. 2288–301. doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.024.
6. Воронков А. В., Поздняков Д. И., Мирошниченко К. А., Потапова А. А. Влияние новых производных пиримидина на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга в условиях хронической травматической энцефалопатии // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2019. Т. 82. № 11. С. 11–14. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-11-11-14.
  7. Воронков А.В., Поздняков Д.И. Оценка влияния 4-гидроксис-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты на изменения антитромботического потенциала эндотелия у кроликов в условиях ишемии головного мозга // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № 8. С. 3–7. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-8-3-7
  8. Gimbrone M.A. Jr., García-Cardeña G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis // Circ Res. – 2016. – V. 118, N 4. – P. 620–636. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
  9. Елагин, В.В. Подходы к коррекции ишемических и реперфузионных повреждений почек в эксперименте / В.В. Елагин, О.И. Братчиков, А.А. Ульянова // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – №4(3). – С. 63–69. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-6.
  10. Shabelnikova A.S., Lutsenko V.D., Pokrovskii M.V., Peresipkina A.A., Korokin M.V., Gudyrev O.S., Hoshenko YA. Protective effects of recombinant erythropoietin in ischemia of the retina: The role of mechanisms of preconditioning // Research Journal of Medical Sciences. – 2015. – V. 9, N 4. – P. 200–203. doi:10.3923/rjmsci.2015.200.203.
  11. Корокина, Л.В. Фармакологическая коррекция L-NAME индуцированного дефицита оксида азота рекомбинантным эритропоэтином / Л.В. Корокина, И.М. Колесник, М.В. Покровский, М.В. Корокин, А.С. Белоус, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, А.Е. Королев, Л.А. Павлова, О.О. Новиков // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – №9 (114). – С. 66–69.
  12. Denisjuk T. Pharmacotherapeutic strategies for endothelial dysfunction correction with use of statins in syndrome of systemic inflammatory response // Research Results in Pharmacology. – 2017. – V. 3, N 4. – P. 35–77. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-4-35-77.
  13. Денисюк, Т.А. Сочетанное применение рекомбинантного эритропоэтина и статинов при эндотоксининдуцированной эндотелиальной дисфункции / Т.А. Денисюк, М.В. Покровский // Аллергология и иммунология. – 2016. – №17(1). – С. 64–65.
  14. Rajkumar D.S.R., Gudyrev O.S., Faiteison A.V., Pokrovskii M.V. Study of the microcirculation level in bone with osteoporosis and osteoporotic fractures during therapy with recombinant erythropoietin, rosuvastatin and their combinations // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. – 2015. – V. 4, N 6. – P. 57–60. doi: 10.18413/2313-8971-2015-1-4-57-60.
  15. Souvenir R., Doycheva D., Zhang J.H., Tang J. Erythropoietin in stroke therapy: friend or foe // Curr Med Chem. – 2015. – V. 22, N 10. – P. 1205–13.
  16. Pearl R.G. Erythropoietin and organ protection: lessons from negative clinical trials // Crit Care. – 2014. – V. 18, N 5. – P. 526. doi: 10.1186/s13054-014-0526-9.
  17. Brines M., Grasso G., Fiordaliso F., Sfacteria A., Ghezzi P., Fratelli M., Latini R., Xie Q.W., Smart J., Su-Rick C.J., Pobre E., Diaz D., Gomez D., Hand C., Coleman T., Cerami A. Erythropoietin mediates tissue protection through an erythropoietin and common beta-subunit heteroreceptor // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2004. – V. 101, N 41. – P. 14907–12. doi.org/10.1073/pnas.0406491101.
  18. Brines M., Patel N.S., Villa P., Brines C., Mennini T., De Paola M., Erbayraktar Z., Erbayraktar S., Sepodes B., Thiemermann C., Ghezzi P., Yamin M., Hand C.C., Xie Q.W., Coleman T., Cerami A. Nonythropoietic, tissue-protective peptides derived from the tertiary structure of erythropoietin // Proc Natl Acad Sci USA. – 2008. – V. 105, N 31. – P. 10925–30. doi: 10.1073/pnas.0805594105.
  19. Sultan F., Singh T.U., Kumar T., Rungtung S., Rabha D.J., Vishwakarma A., Sukumaran S.V., Kandasamy A., Parida S. Short-term exposure of erythropoietin impairs endothelial function through inhibition of nitric oxide production and eNOS mRNA expression in the rat pulmonary artery // Pharmacol Rep. – 2017. – V. 69, N 4. – P. 658–665. doi: 10.1016/j.pharep.2017.02.003.
  20. Pytela R., Pierschbacher M.D., Ginsberg M.H., Plow E.F., Ruoslahti E. Platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa: member of a family of Arg-Gly-Asp-specific adhesion receptors // Science. – 1986. – V. 231, N 4745. – P. 1559–62. doi: 10.1126/science.2420006.
  21. Sheu J.R., Yen M.H., Peng H.C., Chang M.C., Huang T.F. Triflavin, an Arg-Gly-Asp-containing peptide, prevents platelet plug formation in vivo experiments // Eur J Pharmacol. – 1995. – V. 294, N 1. – P. 231–8. doi: 10.1016/0014-2999(95)00530-7.
  22. Hung Y.C., Kuo Y.J., Huang S.S., Huang T.F. Trimucrin, an Arg-Gly-Asp containing disintegrin, attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in murine by inhibiting platelet function // Eur J Pharmacol. – 2017. – V. 813. – P. 24–32. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.07.039.
  23. Pastorova V.E., Liapina L.A., Alshmarin I.P., Ostrovskaja P.U., Gudashva T.A., Lugovskoi E.V. Fibrin-depolymerization activity and the antiplatelet effect of small cyclic and linear proline-containing peptides // Izv Akad Nauk Ser Biol. – 2001. – N. 5. – P. 593–6.
  24. Lyapina L.A., Pastorova V.E., Obergan T.Y. Changes in hemostatic parameters after intranasal administration of peptide Pro-Gly-Pro // Bull Exp Biol Med. – 2007. – V. 144, N 4. – P. 491–3. doi: 10.1007/s10517-007-0358-6.
  25. Liapina L.A., Grigor'eva M.E., Andreeva L.A., Miasoedov N.F. Protective antithrombotic effects of proline-containing peptides in the animal body subjected to stress // Izv Akad Nauk Ser Biol. – 2010. – N 4. – P. 462–7.
  26. Shevchenko K.V., Nagaev I.Y., Andreeva L.A., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. Stability of proline-containing peptides in biological media // Biomed Khim. – 2019. – V. 65, N 3. – P. 180–201. doi: 10.18097/PBMC20196503180.
  27. Wang Z., Zhang S., Jin H., Wang W., Huo J., Zhou L., Wang Y., Feng F., Zhang L. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides: Chemical feature based pharmacophore generation // Eur J Med Chem. – 2011. – V. 46, N 8. – P. 3428–33. doi: 10.1016/j.ejchem.2011.05.007.
  28. Montezano A.C., Nguyen Dinh Cat A., Rios F.J., Touyz R.M. Angiotensin II and vascular injury // Curr Hypertens Rep. – 2014. – V. 16, N 6. – P. 431. doi: 10.1007/s11906-014-0431-2.

## АВТОРЫ

**Корокин Михаил Викторович** – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

**Солдатов Владислав Олегович** – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-9706-0699. E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

**Алеся Титце** – старший преподаватель, доцент кафедры химии и молекулярной биологии, отдел медицинской химии, специализирующийся на синтезе биоактивных пептидов, Гётеборгский университет. ORCID ID: 0000-0002-9281-548X. E-mail: a.tietze@tietze-lab.com

**Голубев Иван Владимирович** – соискатель кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-3754-0380. E-mail: golubevvano@yandex.ru

**Белых Андрей Евгеньевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: and-white@yandex.ru

**Кубекина Марина Владиславовна** – аспирант, ФГБУН «Институт биологии гена РАН». ORCID ID: 0000-0002-8834-1111. E-mail: marykumy@gmail.com

**Пученкова Олеся Андреевна** – студент 5 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-7657-0937. E-mail: lesya759@yandex.ru

**Денисюк Татьяна Алексеевна** – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Курский государствен-

ный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0974-4818. E-mail: denitatyana@yandex.ru

**Гуреев Владимир Владимирович** – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-1433-1225. E-mail: produmen@yandex.ru

**Покровская Татьяна Григорьевна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6802-5368. E-mail: pokrovskaia-tg@mail.ru

**Гудырев Олег Сергеевич** – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0097-000X. E-mail: gudyrev@mail.ru

**Максим Андреевич Жученко** – кандидат биологических наук, начальник сектора, НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИ-генетика. E-mail: maksim.zhuchenko@pharmapark.ru

**Затолокина Мария Алексеевна** – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9553-1597. E-mail: marika1212@mail.ru

**Покровский Михаил Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ Фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru