

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 547.867.6+616.155.34

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-730-735>

Поступило в редакцию 12.02.2019

Received 12.02.2019

**В. Е. Луценко¹, Д. В. Григорьева¹, И. В. Горудко¹, А. В. Соколов²,
О. М. Панасенко³, академик С. Н. Черенкевич¹**

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА С ГАЛЛОЦИАНИНОМ ПРИ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ

Аннотация. В работе изучены химические изменения красителя галлоцианина при его взаимодействии с активными формами кислорода (O_2^- , H_2O_2) и хлорноватистой кислотой (HOCl). Показано, что данный краситель в растворе претерпевает химические превращения как при действии активных форм кислорода, так и галогенов. Согласно полученным данным, в суспензии активированных нейтрофилов основной вклад в превращение красителя вносит O_2^- . Следовательно, галлоцианин может быть применен для оценки функциональной активности нейтрофилов, а именно НАДФН-оксидазного комплекса, а также при разработке терапевтических методов лечения с применением антиоксидантов при заболеваниях, ассоциированных с развитием окислительного стресса.

Ключевые слова: галлоцианин, окислительный стресс, активные формы кислорода, активные формы галогенов, флуоресценция

Для цитирования: Взаимодействие активных форм кислорода с галлоцианином при активации нейтрофилов / В. Е. Луценко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 6. – С. 730–735. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-730-735>

**Veronika E. Lutsenko¹, Daria V. Grigorieva¹, Irina V. Gorudko¹, Alexey V. Sokolov², Oleg M. Panasenko³,
academician Sergey N. Cherenkevich¹**

INTERACTION BETWEEN REACTIVE OXYGEN SPECIES AND GALLOCYANINE UNDER NEUTROPHIL ACTIVATION

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

³Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency,
Moscow, Russian Federation

Abstract. Reactive oxygen species (ROS) have a crucial role in human physiological and pathophysiological processes. Prolonged exposure to high ROS concentrations may lead to cardiovascular, neurodegenerative, etc. diseases. In this study, gallocyanine has been proposed to register the ROS production. The gallocyanine spectral properties changes under ROS (O_2^- , H_2O_2) and reactive halogen (HOCl) species are analyzed. It is shown that the dye is oxidized in solution, both under the action of ROS and reactive halogen species. Based on the data obtained, it is possible to suggest that superoxide anion radicals make a major contribution to chemical conversion of the dye in suspensions of activated neutrophils. It is that gallocyanine can be used to assess the functional activity of neutrophils, namely, the NADPH-oxidase, as well as to design and test novel therapeutic agents for diseases associated with developing oxidative stress.

Keywords: gallocyanine, oxidative stress, reactive oxygen species, reactive halogen species, fluorescence

For citation: Lutsenko V. E., Grigorieva D. V., Gorudko I. V., Sokolov A. V., Panasenko O. M., Cherenkevich S. N. Interaction between reactive oxygen species and gallocyanine under neutrophil activation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 6, pp. 730–735 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-6-730-735>

Введение. Активные формы кислорода (АФК) и галогенов (АФГ) образуются в организме человека с участием НАДФН-оксидазы, супероксиддисмутазы и миелопероксидазы (МПО) нейтрофилов. Эти клетки являются самой многочисленной популяцией циркулирующих лейкоцитов у взрослого человека (около 60 %), для которых АФК и АФГ играют решающую роль в процессах межклеточной сигнализации, апоптоза, уничтожения патогенов и др. Однако они же

вовлечены в развитие сердечно-сосудистых, онкологических, неврологических и других заболеваний [1; 2]. В связи с этим актуальна разработка методов, обеспечивающих чувствительную и избирательную регистрацию АФК и АФГ, для терапевтического контроля активности ферментов, участвующих в образовании данных соединений, и для диагностики заболеваний, ассоциированных с развитием окислительного/галогенирующего стресса. Среди методов, используемых для обнаружения АФК и АФГ (иммуноферментный анализ, хемилюминесценция, масс-спектрометрия, методы электронного парамагнитного и ядерного магнитного резонанса, проточной цитофлуориметрии, конфокальной микроскопии и др.), флуоресцентный анализ отличается высокой чувствительностью и доступностью [3; 4].

Однако вещества, применяемые при флуоресцентном анализе (тирозин, аминифенил флуоресцеин, родамин 19 и др.), имеют высокое сродство как к АФК, так и к АФГ, что затрудняет их избирательную регистрацию [5]. Краситель целестиновый синий В (СВ) был ранее [6] предложен для регистрации продукции нейтрофилами АФГ и их производных. Однако СВ окисляется хлораминами и бромаминами таурина, что затрудняет количественное определение окисленных продуктов ввиду присутствия таурина и других аминокислот в клеточной среде, к тому же СВ не растворим в фосфатно-солевом буфере, нестабилен на свету [6]. Таким образом, актуальным является поиск альтернативных пигментов для идентификации АФК и АФГ, продуцируемых нейтрофилами.

Среди исследуемых ранее [6] красителей интерес представляет галлоцианин (GC). Он является структурным аналогом СВ, однако отличается хорошей растворимостью в фосфатно-солевом буфере и большей фотостабильностью. Таким образом, целью работы является изучение взаимодействия галлоцианина с активными формами кислорода (O_2^- , H_2O_2) и $HOCl$ в водной среде и в суспензии активированных нейтрофилов (т. е. в условиях, моделирующих окислительный стресс).

Материалы и методы исследования. В работе использовали следующие реактивы: цитрат натрия, N-формил-метил-лейцил-фенилаланин (fMLP), гипохлорит натрия ($NaOCl$), GC, диоксид калия (KO_2), ксантиноксидазу (ХО), ксантин (X), гидразид 4-аминобензойной кислоты (4-АВАН), церулоплазмин (ЦП), супероксиддисмутазу (СОД), таурин, маннитол и цистеин фирмы Sigma (США); декстран Т70 фирмы Roth (Германия); гистопак фирмы Nyscomed (Норвегия). Остальные реактивы – производства «Реахим» (Россия) и «Белмедпрепараты» (Беларусь).

В качестве буферного раствора использовали фосфатно-солевой буфер (ФСБ), содержащий 10 мМ Na_2HPO_4/KH_2PO_4 , 137 мМ $NaCl$, 2,7 мМ KCl (рН 7,4).

Нейтрофилы выделяли путем центрифугирования в градиенте плотности гистопака из крови здоровых доноров как описано ранее [7]. Полученный осадок нейтрофилов отмывали в ФСБ, содержащем 2 мг/мл D-глюкозы, и хранили при 4 °С в течение нескольких часов.

Регистрацию спектров поглощения проводили с использованием двухлучевого спектрофотометра Solar РВ 2201В (Минск, Беларусь). Спектры возбуждения и испускания флуоресценции анализировали с применением спектрофлуориметра Solar СМ 2203 (Минск, Беларусь).

Продукцию АФК и АФГ нейтрофилами оценивали флуоресцентным методом с использованием GC. К нейтрофилам (10^6 кл/мл) в ФСБ, содержащем 1 мМ $CaCl_2$ и 0,5 мМ $MgCl_2$, добавляли GC (5 мкМ), fMLP (500 нМ), ингибиторы продукции АФК и АФГ и их перехватчики (СОД, 4-АВАН, ЦП, таурин, маннитол, цистеин). Для регистрации флуоресценции были подобраны значения длин волн возбуждения и регистрации – 360 и 490 нм соответственно. Регистрацию осуществляли при 37 °С и постоянном перемешивании суспензии. Среди параметров, характеризующих химическое превращение красителя, были выбраны: скорость реакции ν , определяемая как тангенс угла наклона начального линейного участка кривой изменения интенсивности флуоресценции, и изменение интенсивности флуоресценции раствора по сравнению с фоновым уровнем через 7 (h_7) или 20 (h_{20}) минут после запуска реакции/активации нейтрофилов, отражающее количество накопившегося флуоресцирующего продукта реакции.

Статистическую и графическую обработку полученных данных выполняли в пакете программ OriginPro 2016. Данные на гистограммах представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Различия считали статистически достоверными при значении $p < 0,05$, рассчитанном

по критерию Стьюдента. Типичные кинетические кривые представляют собой инвариант 3–5 независимых экспериментов.

Результаты и их обсуждение. Поскольку GC является структурным аналогом СВ, который ранее [6] был предложен в качестве перспективного агента для селективного обнаружения АФГ, то на первом этапе исследования было изучено влияние HOCl на спектры поглощения и флуоресценции GC.

На рис. 1 представлены спектры поглощения GC (20 мкМ, рис. 1, а), а также спектры возбуждения и испускания флуоресценции продукта химического превращения GC (5 мкМ, рис. 1, б) и изменения данных спектров в присутствии HOCl (2,5 – 40 мкМ, рис. 1, а; 2,5 – 10 мкМ, рис. 1, б).

Видно, что добавление HOCl к раствору красителя приводило к уменьшению оптической плотности раствора при длине волны 623 нм и появлению менее интенсивной полосы поглощения с максимумом при 475 нм (рис. 1, а), а также к увеличению интенсивности флуоресценции раствора красителя (максимумы в спектре возбуждения – 269, 292 и 360 нм, испускания – 490 нм, рис. 1, б), что обусловлено образованием продукта реакции. Для дальнейших исследований химического превращения GC использовали длины волн возбуждения и испускания флуоресценции 360 и 490 нм соответственно.

Так как в клеточной суспензии предшественниками HOCl являются O_2^- и H_2O_2 , то на следующем этапе было исследовано окисление GC при действии этих АФК. Добавление H_2O_2 (10–500 мкМ) к раствору красителя не вызывало изменений ни в спектрах поглощения, ни в спектрах флуоресценции GC (данные не приведены). Для исследования взаимодействия GC с O_2^- были использованы система ксантиноксидаза/ксантин (ХО/Х) и KO_2 , гидролизующийся в водной среде с образованием O_2^- . Известно [8], что ХО в присутствии субстрата Х катализирует превращение O_2 в O_2^- . В данной системе в качестве контроля использовали раствор, не содержащий Х.

На рис. 2, а, б представлены кинетические кривые химического преобразования GC при действии 100 мкМ KO_2 (рис. 2, а) и в системе ХО/Х, содержащей 140 мкг/мл ХО и 1 мМ Х (рис. 2, б).

Видно, что при добавлении к раствору красителя KO_2 , а также в присутствии системы ХО/Х происходило увеличение интенсивности флуоресценции раствора, что свидетельствует о взаимодействии красителя с O_2^- и об образовании флуоресцирующего продукта (рис. 2, а, б). Уменьшение интенсивности флуоресценции и скорости химического превращения GC в присутствии перехватчиков O_2^- : СОД (50 мкг/мл), ЦП (150 мкг/мл) и цистеина (3,3 мМ) в системе ХО/Х (рис. 2, с,

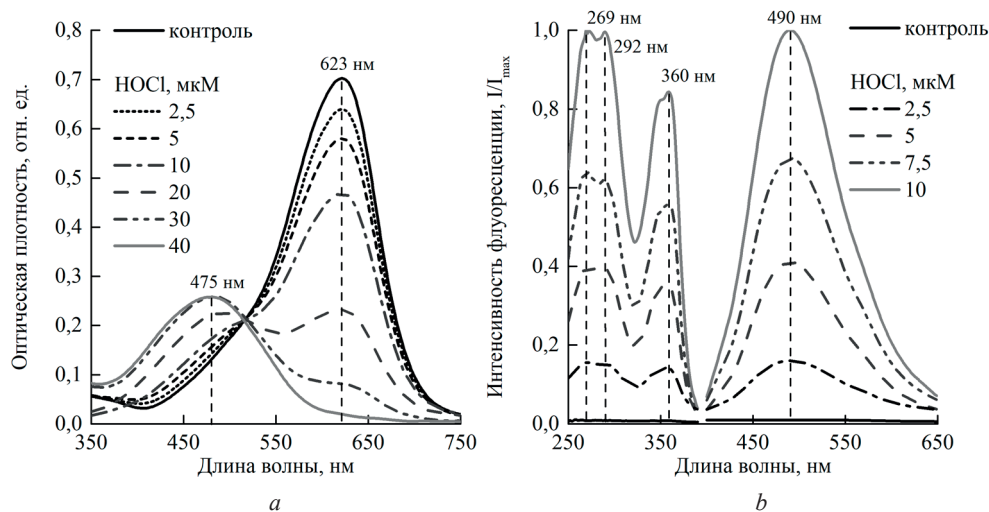


Рис. 1. Влияние HOCl на спектры поглощения (а), возбуждения и испускания флуоресценции (б) GC. ФСБ (pH 7,4), 25 °С

Fig. 1. Influence of HOCl on the spectra of absorption (a), excitation and emission of fluorescence (b) GC. Phosphate buffered saline (pH 7.4), 25 °C

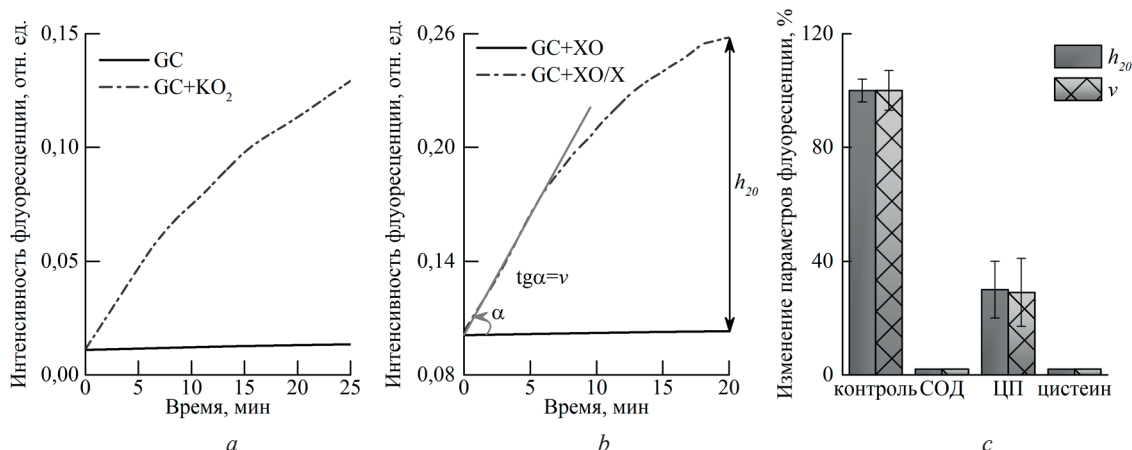


Рис. 2. Исследование продукции O_2^- с использованием GC: *a* – изменение интенсивности флуоресценции при добавлении 100 мкМ KO_2 (ФСБ, 37 °С); *b* – кинетическая кривая изменения интенсивности флуоресценции GC в системе XO/X (ФСБ, 25 °С); *c* – влияние перехватчиков АФК на параметры флуоресценции (h_{20} и v) GC в системе XO/X

Fig. 2. Study of O_2^- products with the GC use: *a* – the change in the intensity of fluorescence added with 100 μM KO_2 (Phosphate buffered saline, 37 °C); *b* – the kinetic curve for the intensity fluorescence GC in the XO/X system (Phosphate buffered saline, 25 °C); *c* – the influence of ROS scavengers on the fluorescence parameters (h_{20} and v) GC in the XO/X system

контроль – GC + XO/X) свидетельствуют о значительном вкладе O_2^- в химические изменения красителя.

Таким образом, в бесклеточной среде как HOCl , так и O_2^- реагируют с GC. Следует отметить, что обе эти реакции могут иметь место в клеточной среде. Так, было показано, что GC претерпевает химические изменения в суспензиях нейтрофилов, активированных fMLP. В связи с этим было исследовано влияние ингибиторов ферментативной активности МПО (4-АВАН и ЦП), перехватчиков АФК и АФГ (таурин, цистеин, маннитол и СОД) на параметры, характеризующие скорость химической реакции и количество накопившегося продукта в суспензии нейтрофилов при их активации 500 нМ fMLP (таблица).

Влияние ингибиторов продукции АФК и АФГ и их перехватчиков на параметры, характеризующие химическое превращение GC в суспензии активированных нейтрофилов

Influence of ROS and RHS production scavengers and inhibitors on the parameters responsible for the chemical conversion of GC in the suspension of activated neutrophils

Параметр Parameter	fMLP, 500 нМ	СОД, 50 мкг/мл	4-АВАН, 100 мкМ	ЦП, 150 мкг/мл	Таурин, 3,2 мМ	Маннитол, 10 мМ	Цистеин, 3,3 мМ
v , % от контроля	100	7 ± 5*	102 ± 29	5 ± 4*	98 ± 27	113 ± 20	25 ± 17*
h_7 , % от контроля	100	14 ± 4*	129 ± 30	19 ± 18*	92 ± 15	107 ± 35	68 ± 47

Примечание. * – $p < 0,05$.
Note. * – $p < 0,05$.

4-АВАН, специфический ингибитор каталитической активности МПО и, соответственно, продукции HOCl [9], таурин, перехватчик HOCl , маннитол, перехватчик гидроксильного радикала, не оказывали достоверного влияния на параметры окисления GC (таблица). В то же время в присутствии СОД, ЦП и цистеина значения интенсивности флуоресценции (h_7) и скорости реакции (v) были ниже контрольных значений (активация нейтрофилов fMLP). По всей видимости, действие ЦП связано с СОД-активностью этого белка [10], а цистеин напрямую реагирует с O_2^- [11].

Закключение. В работе исследовано взаимодействие GC с АФК (O_2^- , H_2O_2) и HOCl в условиях, моделирующих окислительный стресс. Показано, что данный краситель в растворе претерпевает химические изменения при действии O_2^- и HOCl , что проявляется в изменении его спек-

тральных свойств. Полученные результаты позволяют предположить, что основной вклад в окисление GC в клеточной суспензии происходит за счет его реакции с $\cdot\text{O}_2^-$. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что GC может быть использован для оценки активности НАДФН-оксидазы нейтрофилов и тестирования антиоксидантных свойств препаратов, разрабатываемых для коррекции заболеваний, сопровождаемых развитием окислительного стресса.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (Б18Р-058) и РФФИ (18-515-00004).

Acknowledgements. The study was supported by Russian Foundation for Basic Research (18-515-00004) and Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (B18R-058).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Reactive oxygen species: from health to disease / K. Brieger [et al.] // *Swiss Medical Weekly*. – 2012. – Vol. 142. – P. 1–14. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>
2. Phaniendra, A. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases / A. Phaniendra, D. B. Jestadi, L. Periyasamy // *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. – 2015. – Vol. 30, N 1. – P. 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
3. Methods for measuring myeloperoxidase activity toward assessing inhibitor efficacy in living systems / J. Huang [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2016. – Vol. 99, N 4. – P. 541–548. <https://doi.org/10.1189/jlb.3ru0615-256r>
4. Tarpey, M. M. Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite / M. M. Tarpey, I. Fridovich // *Circulation Research*. – 2001. – Vol. 89, N 3. – P. 224–236. <https://doi.org/10.1161/hh1501.094365>
5. Detection of the halogenating activity of heme peroxidases in leukocytes by aminophenyl fluorescein / J. Flemmig [et al.] // *Free Radical Research*. – 2015. – Vol. 49, N 6. – P. 768–776. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.999676>
6. Kinetic method for assaying the halogenating activity of myeloperoxidase based on reaction of celestine blue B with taurine halogenamines / A. V. Sokolov [et al.] // *Free Radical Research*. – 2015. – Vol. 49, N 6. – P. 777–789. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1017478>
7. Timoshenko, A. V. Lectin-triggered superoxide/ H_2O_2 and granule enzyme release from cells / A. V. Timoshenko, K. Kayser, H. J. Gabius // *Lectin Methods and Protocols*. – Humana Press, 1998. – P. 441–451. <https://doi.org/10.1385/0-89603-396-1:441>
8. Borges, F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors / F. Borges, E. Fernandes, F. Roleira // *Current Medicinal Chemistry*. – 2002. – Vol. 9, N 2. – P. 195–217. <https://doi.org/10.2174/0929867023371229>
9. Myeloperoxidase: a target for new drug development? / E. Malle [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2007. – Vol. 152, N 6. – P. 838–854. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707358>
10. Capacity of ceruloplasmin to scavenge products of the respiratory burst of neutrophils is not altered by the products of reactions catalyzed by myeloperoxidase / A. V. Sokolov [et al.] // *Biochemistry and Cell Biology*. – 2018. – Vol. 96, N 4. – P. 457–467. <https://doi.org/10.1139/bcb-2017-0277>
11. Winterbourn, C. C. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide / C. C. Winterbourn, D. Metodiewa // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1999. – Vol. 27, N 3–4. – P. 322–328. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(99\)00051-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00051-9)

References

1. Brieger K., Schiavone S., Miller Jr., Krause K. H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 2012, vol. 142, pp. 1–14. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>
2. Phaniendra A., Jestadi D. B., Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2015, vol. 30, no. 1, pp. 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
3. Huang J., Milton A., Arnold R. D., Huang H., Smith F., Panizzi J. R., Panizzi P. Methods for measuring myeloperoxidase activity toward assessing inhibitor efficacy in living systems. *Journal of Leukocyte Biology*, 2016, vol. 99, no. 4, pp. 541–548. <https://doi.org/10.1189/jlb.3ru0615-256r>
4. Tarpey M. M., Fridovich I. Methods of detection of vascular reactive species: nitric oxide, superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite. *Circulation Research*, 2001, vol. 89, no. 3, pp. 224–236. <https://doi.org/10.1161/hh1501.094365>
5. Flemmig J., Remmler J., Zschaler J., Arnhold J. Detection of the halogenating activity of heme peroxidases in leukocytes by aminophenyl fluorescein. *Free Radical Research*, 2015, vol. 49, no. 6, pp. 768–776. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.999676>
6. Sokolov A. V., Kostevich V. A., Kozlov S. O., Donskyi I. S., Vlasova I. I., Rudenko A. O., Zakharova E. T., Vasilyev V. B., Panasenko O. M. Kinetic method for assaying the halogenating activity of myeloperoxidase based on reaction of celestine blue B with taurine halogenamines. *Free Radical Research*, 2015, vol. 49, no. 6, pp. 777–789. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1017478>
7. Timoshenko A. V., Kayser K., Gabius H. J. Lectin-triggered superoxide/ H_2O_2 and granule enzyme release from cells. *Lectin Methods and Protocols*. Humana Press, 1998, pp. 441–451. <https://doi.org/10.1385/0-89603-396-1:441>

8. Borges F., Fernandes E., Roleira F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, vol. 9, no. 2, pp. 195–217. <https://doi.org/10.2174/0929867023371229>
9. Malle E., Furtmüller P. G., Sattler W., Obinger C. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *British Journal of Pharmacology*, 2007, vol. 152, no. 6, pp. 838–854. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707358>
10. Sokolov A. V., Kostevich V. A., Varfolomeeva E. Y., Grigorieva D. V., Gorudko I. V., Kozlov S. O., Kudryavtsev I. V., Mikhailchik E. V., Filatov M. V., Cherenkevich S. N., Panasenko O. M., Arnhold J., Vasilyev V. B. Capacity of ceruloplasmin to scavenge products of the respiratory burst of neutrophils is not altered by the products of reactions catalyzed by myeloperoxidase. *Biochemistry and Cell Biology*, 2018, vol. 96, no. 4, pp. 457–467. <https://doi.org/10.1139/bcb-2017-0277>
11. Winterbourn C. C., Metodiewa D. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, vol. 27, no. 3–4, pp. 322–328. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(99\)00051-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(99)00051-9)

Информация об авторах

Луценко Вероника Евгеньевна – аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nika.lutsenko@tut.by.

Григорьева Дарья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dargr@tut.by.

Горудко Ирина Владимировна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: irinagorudko@gmail.com.

Соколов Алексей Викторович – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт экспериментальной медицины (ул. Академика Павлова, 12, 197376, Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: biochemsokolov@gmail.com.

Панасенко Олег Михайлович – д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА (ул. Малая Пироговская, 1а, 119435, Москва, Российская Федерация). E-mail: o-panas@mail.ru.

Черенкевич Сергей Николаевич – академик, д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: cherenkevich@bsu.by.

Information about the authors

Lutsenko Veronika Evgenievna – Postgraduate student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nika.lutsenko@tut.by.

Grigorieva Daria Vladimirovna – Ph. D. (Biology), Senior researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dargr@tut.by.

Gorudko Irina Vladimirovna – Ph. D. (Biology), Associate professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irinagorudko@gmail.com.

Sokolov Alexey Viktorovich – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Experimental Medicine (12, Academician Pavlov Str., 197376, Saint Petersburg, Russian Federation). E-mail: biochemsokolov@gmail.com.

Panasenko Oleg Mikhailovich – D. Sc. (Biology), Professor, Head of Department. Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency (1a, Malaya Pirogovskaya Str., 119435, Moscow, Russian Federation). E-mail: o-panas@mail.ru.

Cherenkevich Sergey Nikolaevich – Academician, D. Sc. (Biology), Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: cherenkevich@bsu.by.