

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 577.29

doi: 10.19163/1994-9480-2021-4(80)-155-160

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСШИРЕННОГО НАБОРА ДЛИН ВОЛН
ВОЗБУЖДЕНИЯ/ИСПУСКАНИЯ ПРИ ОБНАРУЖЕНИИ
ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ,
ОБРАЗУЮЩИХСЯ *IN VITRO* И *IN VIVO***

Р.А. Литвинов^{1,2}, У.М. Ибрагимова¹, А.Ш. Рзаева¹, Е.В. Соколова¹, А.И. Шушакова¹, Н.В. Валуйский¹

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

² Волгоградский научный медицинский центр, Волгоград, Россия

Автор, ответственный за переписку: Роман Александрович Литвинов, litvinov.volggmu@mail.ru

Аннотация. С использованием набора длин волн возбуждения/испускания, характерных для различных флуоресцирующих конечных продуктов гликирования (КПГ), исследована интенсивность флуоресценции гликированного *in vitro* альбумина и гидролизата сухожилий хвоста крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом. При проведении спектрофлуориметрического анализа образцов использованы следующие длины волн возбуждения/испускания: 335/385 нм, 345/405 нм, 370/440 нм, 379/463 нм и 440/520 нм. Изучена способность 1-бензил-1,4-дигидроникотинамида (флуорофора, использованного в качестве интерферирующего агента) отклонять значения флуоресценции, определяемой при данных длинах волн. Показано, что гликированный альбумин и гидролизат сухожилий животных с сахарным диабетом имеют идентичные значения флуоресценции при всех указанных длинах волн. В то же время 1-бензил-1,4-дигидроникотинамид, вносимый в пробы после окончания реакции гликирования, отклонял результаты измерений только при длинах волн возбуждения/испускания 370/440 и 379/463 нм. Таким образом, продемонстрировано преимущество одновременного использования всего набора длин волн возбуждения/испускания для целей спектрофлуориметрического определения КПГ. Мы полагаем, что данный подход позволит снизить риск возникновения ошибки в результатах по причине интерференции.

Ключевые слова: гликирование, конечные продукты гликирования, сухожилие хвоста крыс, щелочной гидролиз, спектрофлуориметрия, 1-бензил-1,4-дигидроникотинамид

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для поддержки молодых ученых – кандидатов наук МК-1887.2020.7.

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

**APPLICATION OF AN EXTENDED SET OF EXCITATION/EMISSION WAVELENGTHS
IN THE DETECTION OF FLUORESCENT ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS,
FORMED BOTH *IN VITRO* AND *IN VIVO***

R.A. Litvinov^{1,2}, U.M. Ibragimova¹, A.S. Rzayeva¹, E.V. Sokolova¹, A.I. Shushakova¹, N.V. Valuyskiy¹

¹ Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

² Volgograd Scientific Medical Center, Volgograd, Russia

Corresponding author: Roman A. Litvinov, litvinov.volggmu@mail.ru

Abstract. Using a set of excitation/emission wavelengths characteristic of fluorescent advanced glycation end-products (AGEs), the fluorescence intensities of glycated albumin and hydrolyzed diabetic rat tail tendons were compared. The following excitation/emission wavelengths were used: 335/385 nm, 345/405 nm, 370/440 nm, 379/463 nm and 440/520 nm. The ability of 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide (a fluorophore) to interfere with fluorescence of AGEs was studied. It was shown that glycated albumin and hydrolyzed tendons of diabetic animals have nearly identical values of fluorescence at all wavelengths. At the same time, 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide, which was added into the samples of glycated albumin to bring the interference (the addition was carried out after the end of glycation reaction), interfere only at the excitation/emission wavelengths of 370/440 nm and 379/463 nm. Thus, the advantage of the use of entire set of the wavelengths (simultaneously) for AGEs detection was confirmed.

© Литвинов Р.А., Ибрагимова У.М., Рзаева А.Ш., Соколова Е.В.,
Шушакова А.И., Валуйский Н.В., 2021

We believe that the usage of the entire set of wavelengths may reduce the risk of interference-induced errors in detection of fluorescent AGEs.

Keywords: glycation, advanced glycation end-products, rat tail tendon, alkaline hydrolysis, spectrofluorimetry, 1-benzyl-1,4-dihydronicotinamide

Funding: The study was carried out with the financial support of a grant from the President of the Russian Federation to support young scientists – candidates of Sciences MK-1887.2020.7.

Реакция неферментативного гликирования (или гликирования) является источником образования токсичных конечных продуктов гликирования (КПГ). Гликирование вовлечено в патогенез поздних осложнений сахарного диабета (ПОСД), является фактором естественного старения и др. На сегодня известно более 20 КПГ, для некоторых из них характерна флуоресценция. Указанное свойство КПГ позволяет детектировать их присутствие в тест-системах и тканях, что используется при ведении доклинических исследований антигликирующих соединений, а также при определении риска наступления ПОСД у человека [1, 2]. Длины волн возбуждения/испускания флуоресцирующих КПГ различаются (весперлизины А и В: 366/442 нм, пентозидин: 335/385 нм, аргпиримидин: 330/400 нм, кросслайн: 379/463 нм, весперлизин С: 345/405 нм, лизилпирролидин: 370/448 нм, FFI: 380/440 нм, флуоролинк: 380/460 нм и т.д.) [2]. Несмотря на указанные различия, использование набора из нескольких длин волн возбуждения/испускания для определения КПГ спектрофлуориметрическим методом не является частым. Описаны подходы, при которых длины волн возбуждения/испускания отдельных КПГ объединялись в комплексы (пентозидин-подобные КПГ: 335/385 нм и весперлизин-подобные КПГ: 370/440 нм) [2], однако в подавляющем большинстве случаев исследователи ограничиваются использованием только одной пары длин волн.

Следует обратить внимание на то, что применение набора из нескольких длин волн оправдано не столько возможностью оценки влияния соединения на образование разных флуоресцирующих КПГ, сколько потребностью минимизировать ошибку, связанную с интерференцией. Интерференция может наблюдаться с исследуемыми соединениями и/или продуктами их реакции с белком/гликирующим агентом/промежуточными продуктами реакции гликирования [2], с некоторыми флуорофорами (например NAD), а также с пигментом кожи [3, 4]. Повышения точности в оценке активности антигликирующих соединений можно достичь путем использования дополнительных длин волн возбуждения/испускания. Так, помимо длин волн, характерных для пентозидина и весперлизинов А и В, согласно данным литературы [5], могут быть использованы длины волн 440/520 нм, позволяющие выявлять продукты гликирования и окисдации. В работе [6] длину волны испускания 520 нм авторы характеризуют как соответствующую некоторым КПГ, образующим поперечные шивки.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Описать эффективную и простую методику определения флуоресцирующих КПГ, применимую как при работе с биоматериалом животных, так и в исследованиях *in vitro*. Авторы полагают, что данная методика позволит минимизировать ошибку, связанную с интерференцией.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Реакция гликирования альбумина глюкозой. Реакция гликирования воспроизведена по ранее описанной методике [7], с модификациями. Гликуемый белок: бычий сывороточный альбумин (БСА, 1 мг/мл, Химмед, Россия); гликирующий агент: глюкоза (0,36 М, Вектон, Россия); среда протекания реакции: фосфатный буферный раствор (рН 7,4, 0,05 М). Продолжительность и условия протекания реакции гликирования: 24 ч при температуре 60 °С. Параллельно получению гликованного БСА был получен негликованный БСА. Негликованный БСА получался в идентичных условиях, но не вступал в реакцию с глюкозой. По истечении 24 ч, отведенных на протекание реакции гликирования, пробы были остужены до комнатной температуры, после чего альбумин был осажден с применением трихлоруксусной кислоты (конечная концентрация 10 %) и последующим центрифугированием (центрифуга Sigma, Германия). Затем жидкая фракция была аспирирована, после чего альбумин вновь растворен в фосфатном буферном растворе (рН 10,5, 0,05 М). Затем аликвоты полученных растворов альбумина были внесены в планшет Costar Black 96 (300 мкл/лунка), после чего проведено спектрофлуориметрическое исследование (микропланшетный ридер Infinite M200 Pro, TECAN, Австрия). Интенсивность флуоресценции была определена при длинах волн возбуждения/испускания, специфичных для следующих КПГ: пентозидин (335/385 нм), весперлизин С (345/405 нм), весперлизины А и В (366/442 нм), кросслайн (379/463 нм) [2, 8], а также при длинах волн возбуждения, превышающих 400 нм (440/520 нм) [5, 8]. Методика использована для получения стандартных данных об интенсивностях флуоресценции КПГ, образующихся в ходе реакции гликирования.

Моделирование сахарного диабета крыс и исследование флуоресценции гидролизатов сухожилий хвоста. Сахарный диабет (СД) смоделирован путем стрептозотоциновой интоксикации крыс (самцы, линия Sprague-

Dawley, ветеринарное свидетельство № 2649623240 от 03.09.2019). Исследования одобрены Региональным исследовательским этическим комитетом Волгоградской области, регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (OHRP), протокол № 116 от 16.10.2017 г.

Стрептозотоцин (Sigma-Aldrich, Германия) вводился однократно, внутривенно, в дозе 45 мг/кг, в цитратном буферном растворе (рН 4,5). Развитие экспериментального СД подтверждалось при достижении уровнем глюкозы значений ≥ 15 ммоль/л. Определение уровня глюкозы проводилось в одно и то же время, до ежедневного обновления корма (глюкометр Глюкокард Сигма, Аркрей РУС, Россия). Продолжительность экспериментального СД составляла 3 месяца, в течение которых концентрация глюкозы в крови животных варьировалась в диапазоне 15–33 ммоль/л. Для предотвращения гибели по причине кетоацидоза, вызванного гипергликемией, животные получали инъекции инсулина «Хумулин М3» (Лилли Франс, Франция). В качестве группы сравнения выступала группа интактных крыс соответствующего пола/возраста, содержащаяся в одних условиях с диабетическими животными на протяжении всего эксперимента. По истечении 3 месяцев животные обеих групп наркотизировались (хлоралгидрат, 400 мг/кг, внутривенно) и в фазе глубокого наркоза умерщвлялись гильотинным способом. Затем проводилось удаление хвоста и извлечение из него сухожилий с последующей их тщательной очисткой от посторонних тканей и промывкой в деионизированной воде. Сухожилия были высушены при температуре 4 °С, затем помещены в 10 М раствора гидроксида калия на 1 ч (3 % w/v). Затем сухожилия были диспергированы (диспергатор T10 Ultra Turrax, IKA, Германия) до получения гомогенного геля. Образованная при диспергации пена осаждалась внесением 20 мкл этанола (96 %). Полученный гель был незамедлительно внесен в лунки планшета Costar Black 96 (300 мкл/лунка), после чего проведено спектрофлуориметрическое исследование (микропланшетный ридер Infinite M200 Pro, TECAN, Австрия). Интенсивность флуоресценции была определена при длинах волн возбуждения/испускания, специфичных для следующих КПП: пентозидин (335/385 нм), весперлизин С (345/405 нм), весперлизины А и В (366/442 нм), кросслайн (379/463 нм) [2, 8], а также при длинах волн возбуждения, превышающих 400 нм (440/520 нм) [5, 8].

Интерференция с BNAH. В пробы гликированного глюкозой альбумина непосредственно перед проведением спектрофлуориметрического исследования вносился 1-бензил-1,4-дигидроникотинамид (BNAH) в конечной концентрации 10 мкМ. Зависимость интенсивности флуоресценции BNAH от его концентрации при указанных длинах волн была предварительно установлена (данные не приводятся). Интенсивность

флуоресценции была определена при длинах волн возбуждения/испускания, специфичных для следующих КПП: пентозидин (335/385 нм), весперлизин С (345/405 нм), весперлизины А и В (366/442 нм), кросслайн (379/463 нм) [2, 8], а также при длинах волн возбуждения, превышающих 400 нм (440/520 нм) [5, 8]. Степень отклонения значений флуоресценции от таковых до добавления BNAH была определена по формуле.

$$\text{Отклонение (\%)} = \text{Fly}_{\text{exp}} \cdot 100 / \text{Fly}_{\text{contr}} - 100,$$

где Fly_{exp} и $\text{Fly}_{\text{contr}}$ соответствуют индивидуальным значениям флуоресценции проб после внесения BNAH и среднему значению флуоресценции проб до внесения соединения.

Статистический анализ данных. Статистическая обработка данных проведена с применением двухфакторного дисперсионного анализа, пост-тест Бонферони (пост-тест применен при исследовании влияния BNAH на интенсивность флуоресценции гликированного альбумина), при уровне значимости $p \leq 0,05$. Исследован вклад следующих факторов в результат: фактор 1 – наличие условия для интенсивного протекания реакции гликирования (присутствие глюкозы в среде с БСА или стрептозотоциновый СД у крыс), фактор 2 – длины волн возбуждения/испускания. Расчеты проведены в программе GraphPad Prism 7.0 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Реакция гликирования альбумина глюкозой. В результате исследования установлена более высокая интенсивность флуоресценции гликированного альбумина в сравнении с негликированным (табл. 1). При проведении двухфакторного дисперсионного анализа выявлен статистически значимый вклад фактора присутствия глюкозы в реакционной среде с альбумином в повышение интенсивности флуоресценции, определяемой с применением всего указанного набора длин волн ($p < 0,0001$). Негликированные пробы, не взаимодействовавшие с глюкозой, имели значительно меньшую интенсивность флуоресценции.

Таблица 1

Интенсивности флуоресценции гликированного и негликированного БСА, $M \pm SEM$

Длины волн возбуждения/испускания, нм	Гликированные пробы, абсолютные значения флуоресценции*	Негликированные пробы, абсолютные значения флуоресценции
335/385	4053,6 ± 210,9	518,0 ± 32,4
345/405	5245,2 ± 257,9	664,4 ± 42,3
370/440	6208,2 ± 280,5	1058,4 ± 112,6
379/463	5570,0 ± 245,2	1020,8 ± 78,4
440/520	3339,4 ± 238,8	901,4 ± 55,6

*Статистически значимые различия с данными негликированных проб (двухфакторный дисперсионный анализ, $p < 0,0001$).

Исследование флуоресценции гидролизатов сухожилий хвоста крыс. Трехмесячный экспериментальный СД к концу срока наблюдения за животными сопровождался всеми характерными признаками заболевания, включая хроническую гипергликемию, полиурию, протеинурию, полидипсию, повышение содержания гликированного гемоглобина и др. (данные не приводятся). В результате исследования установлена более высокая интенсивность флуоресценции гидролизованного материала сухожилий крыс с СД в сравнении с гидролизированным материалом сухожилий интактных крыс (табл. 2).

Таблица 2

Интенсивности флуоресценции гидролизатов сухожилий хвостов крыс с модельным сахарным диабетом и без него, М ± SEM

Длины волн возбуждения/испускания, нм	Гидролизат сухожилий хвоста диабетических животных, абсолютные значения флуоресценции*	Гидролизат сухожилий хвоста диабетических животных, абсолютные значения флуоресценции
335/385	3673,6 ± 497,3	2271,6 ± 245,4
345/405	4170,1 ± 586,2	2654,0 ± 298,6
370/440	5087,1 ± 1026,2	3668,1 ± 943,0
379/463	5872,9 ± 670,7	4371,4 ± 1115,9
440/520	3413,8 ± 688,3	2354,3 ± 745,0

*Статистически значимые различия данных с данными группы животных без сахарного диабета (двухфакторный дисперсионный анализ, $p = 0,0042$).

При проведении двухфакторного дисперсионного анализа выявлен статистически значимый вклад фактора наличия экспериментального СД в повышение интенсивности флуоресценции, определяемой с применением всего указанного набора длин волн ($p = 0,0042$).

Следует отметить, что биоматериал, забранный у здоровых животных, также флуоресцировал, однако интенсивность флуоресценции была ниже, чем у животных с СД, но значительно превосходила таковую образцов негликированного альбумина. Данное наблюдение соответствует представлению о том, что КПП образуются не только в результате продолжительной гипергликемии в условиях экспериментального СД, но и в ходе нормальной жизнедеятельности организма, накапливаясь по мере естественного старения [10].

Обращает на себя внимание идентичность значений интенсивностей флуоресценции биоматериала животных с экспериментальной патологией и образцов гликированного альбумина (двухфакторный дисперсионный анализ, $p = 0,3203$) (рис. 1).

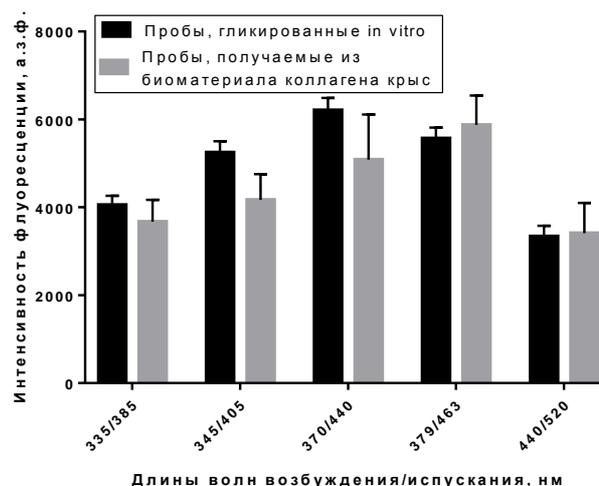


Рис. 1. Сопоставление интенсивностей флуоресценции гликированного альбумина и гидролизатов сухожилий животных с экспериментальным сахарным диабетом, М ± SEM; а.з.ф. – абсолютные значения флуоресценции

Идентичность значений флуоресценции образцов гликированного альбумина и образцов гидролизатов сухожилий крыс с экспериментальным СД при использованных длинах волн позволяет соотносить значения флуоресценции гидролизатов исследуемых тканей с концентрацией флуоресцирующих КПП в них.

Интерференция с BNAH. В результате сопоставления интенсивностей флуоресценции гликированного альбумина в отсутствие и в присутствии BNAH было показано, что статистически значимое отклонение результатов в ответ на внесение BNAH наблюдается только при длинах волн возбуждения/испускания 370/440 нм и 379/463 нм (рис. 2). Отклонение значений не связано с изменением концентрации КПП в пробах, поскольку соединение внесено в образцы непосредственно перед проведением спектрофлуориметрического исследования.

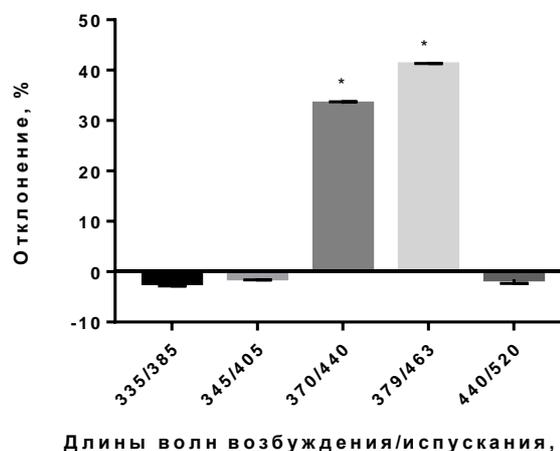


Рис. 2. Отклонение значений интенсивностей флуоресценции КПП сразу после внесения в пробы BNAH, М ± SEM

Таким образом, ВНАН, выступая в роли интерферирующего агента, отклонил значения флуоресценции, определяемые только при некоторых длинах волн. Из этого можно заключить, что использование пяти указанных пар длин волн позволяет снизить вероятность ошибки в результатах, возникающей при спектрофлуориметрическом определении КПП по причине интерференции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования показано, что набор из пяти пар длин волн возбуждения/испускания, характерных для флуоресцирующих КПП, а именно 335/385, 345/405, 370/440, 379/463 и 440/520 нм, позволяет корректно определять КПП в тканях животных с экспериментальным СД или без него. Также показано, что применение данного набора длин волн позволяет снизить риск возникновения ошибки в результатах, связанной с интерференцией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Association between Fluorescent Advanced Glycation End-Products and Vascular Complications in Type 2 Diabetic Patients / A. Guerin-Dubourg, M. Cournot, C. Planesse [et al.] // *BioMed Research International*. 2017. Vol. 2017. Art. ID 7989180.
2. Tuning a 96-well microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts / L. Séro, L. Sanguinet, P. Blanchard [et al.] // *Molecules*. 2013. Vol. 18 (11). P. 14320–14339.
3. Perrone A., Giovino A., Benny J., Martinelli F. Advanced Glycation End Products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects // *Oxid Med Cell Longev*. 2020. Vol. 2020. Art. ID 3818196.
4. Correlation of advanced glycation endproducts estimated from skin fluorescence in first-degree relatives: the impact of adjustment for skin pigmentation / E.A. Báez, S. Shah, D. Felipe [et al.] // *J Diabetes Sci Technol*. 2015. Vol. 9 (2). P. 278–281.
5. Two fluorescent wavelengths, 440(ex)/520(em) nm and 370(ex)/440(em) nm, reflect advanced glycation and oxidation end products in human skin without diabetes / P.J. Beisswenger, S. Howell, T. Mackenzie [et al.] // *Diabetes Technol Ther*. 2012. Vol. 14 (3). P. 285–292.
6. Factors associated with obesity alter matrix remodeling in breast cancer tissues / Y. Zhang, F.K. Baloglu, L.E.H. Ziemer [et al.] // *J Biomed Opt*. 2020. Vol. 25(1). P. 1–14.
7. Кузнецова В.А., Соловьева О.А., Мацевич А.И., Спасов А.А. Метод оценки антигликирующей активности *in vitro* новых веществ // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2014. № 3 (43). С. 50–51.
8. Литвинов Р.А., Гонтарева А.В., Усмьянова Л.Э., Клименко Д.Р. Влияние некоторых d-металлов на образование

конечных продуктов гликирования, агрегацию и амилоидную трансформацию альбумина в реакции гликирования // *Фармация и фармакология*. 2021. Т. 9, № 4. С. 306–317.

9. Two-way ANOVA was performed using GraphPad Prism version 7.0.0 for Windows, GraphPad Software. San Diego, California USA. URL: www.graphpad.com (accessed: 21.08.2021).

10. Advanced glycation end products (AGEs) and other adducts in aging-related diseases and alcohol-mediated tissue injury / W. Rungratanawanich, Y. Qu, X. Wang [et al.] // *Exp Mol Med*. 2021. Vol. 53. P. 168–188.

REFERENCES

1. Guerin-Dubourg A., Cournot M., Planesse C. et al. Association between Fluorescent Advanced Glycation End-Products and Vascular Complications in Type 2 Diabetic Patients. *BioMed Research International*. 2017;2017:ID 7989180.
2. Séro L., Sanguinet L., Blanchard P. et al. Tuning a 96-well microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts. *Molecules*. 2013;18(11):14320–14339.
3. Perrone A., Giovino A., Benny J., Martinelli F. Advanced Glycation End Products (AGEs): Biochemistry, Signaling, Analytical Methods, and Epigenetic Effects. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:ID 3818196.
4. Báez E.A., Shah S., Felipe D., Maynard J., Chalew S. Correlation of advanced glycation endproducts estimated from skin fluorescence in first-degree relatives: the impact of adjustment for skin pigmentation. *J Diabetes Sci Technol*. 2015;9(2):278–281.
5. Beisswenger P.J., Howell S., Mackenzie T., Corstjens H., Muizzuddin N., Matsui M.S. Two fluorescent wavelengths, 440(ex)/520(em) nm and 370(ex)/440(em) nm, reflect advanced glycation and oxidation end products in human skin without diabetes. *Diabetes Technol Ther*. 2012;14(3):285–292.
6. Zhang Y., Baloglu F.K., Ziemer L.E.H. et al. Factors associated with obesity alter matrix remodeling in breast cancer tissues. *J Biomed Opt*. 2020;25(1):1–14.
7. Kuznetsova V.A., Solovyova O.A., Matsevich A.I., Spasov A.A. Evaluation of *in vitro* antiglycation activity of novel substances. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University*. 2014;3(43):50–51. (In Russ.).
8. Litvinov R.A., Gontareva A.V., Usmyanova L.E., Klimenko D.R. Influence of certain d-metals on formation of advanced glycation end products, aggregation and amyloid transformation of albumin in glycation reaction. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(3):306–317.
9. Two-way ANOVA was performed using GraphPad Prism version 7.0.0 for Windows, GraphPad Software. San Diego, California USA. URL: www.graphpad.com (accessed 21.08.2021).
10. Rungratanawanich W., Qu Y., Wang X., Essa M.M., Song B.-J. Advanced glycation end products (AGEs) and other adducts in aging-related diseases and alcohol-mediated tissue injury. *Exp Mol Med*; 2021;53:168–188.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Роман Александрович Литвинов – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории метаболитных лекарственных средств, Научный центр инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством, Волгоградский государственный медицинский университет, научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии, Волгоградский научный медицинский центр, Волгоград, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0162-0653>

Умида Махсатовна Ибрагимова – студентка фармацевтического факультета, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, iumida@list.ru

Алина Шамильевна Рзаева – студентка фармацевтического факультета, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, rzaeva.alina@yandex.ru

Елена Вячеславовна Соколова – аспирант кафедры фармакологии и биоинформатики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, sokolova210795@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4914-2507>

Ангелина Игоревна Шушакова – студентка лечебного факультета, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, aangel0508@outlook.com.

Никита Вадимович Валуйский – студент лечебного факультета, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, AjI024FiB@gmail.com

Статья поступила в редакцию 30.09.2021; одобрена после рецензирования 17.11.2021; принята к публикации 23.11.2021.

The authors declare no conflicts of interests.

Information about the authors

Roman A. Litvinov – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Metabotropic Medicines, Scientific Center for Innovative Medicines with Pilot Production, Volgograd State Medical University, Researcher at the Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd Scientific Medical Center, Volgograd, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0162-0653>

Umida M. Ibragimova – Student of the Faculty of Pharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, iumida@list.ru

Alina Sh. Rzaeva – Student of the Faculty of Pharmacy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, rzaeva.alina@yandex.ru

Elena V. Sokolova – Postgraduate Student of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, sokolova210795@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4914-2507>

Angelina I. Shushakova – Student of the Faculty of Medicine, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, aangel0508@outlook.com

Nikita V. Valuisky – Student of the Faculty of Medicine, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, AjI024FiB@gmail.com

The article was submitted 30.09.2021; approved after reviewing 17.11.2021; accepted for publication 23.11.2021.