

УДК 616.02; 616-092  
<https://doi.org/10.17816/MAJ19185-90>

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЭМОЦИОНАЛЬНО-ФИЗИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ

И.А. Янкелевич<sup>1,2</sup>, Т.А. Филатенкова<sup>1,2</sup>, М.В. Шустов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Янкелевич И.А., Филатенкова Т.А., Шустов М.В. Влияние хронического эмоционально-физического стресса на показатели нейроэндокринной и иммунной систем // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 1. – С. 85–90. <https://doi.org/10.17816/MAJ19185-90>

Поступила: 18.01.2019

Одобрена: 18.02.2019

Принята: 28.02.2019

Цель представленного исследования заключалась в иммунологической характеристике разработанной нами модели хронического стресса. Большинство имеющихся на данный момент моделей хронического стресса предполагают продолжительное время исследования, они трудоемки, сложны в исполнении, а также трудно воспроизводимы, что приводит к ограничениям в их применении. Предложена модель хронического стресса — ежедневное плавание в холодной воде в течение 10 дней. Описанное воздействие приводило к значительной инволюции тимуса, увеличению относительной степени экспрессии генов интерлейкина-4 (*IL-4*) и интерлейкина-6 (*IL-6*) в тимусе и ее снижению в гипоталамусе, изменению поведенческих реакций, а также многократному увеличению концентрации кортикостерона в крови экспериментальных животных. Полученные данные свидетельствуют, что многократное плавание в холодной воде вызывало у экспериментальных животных изменение активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, иммунной систем, а также демонстрируют возможность применения представленной модели в качестве модели хронического стресса.

**Ключевые слова:** хронический стресс; инволюция тимуса; кортикостерон; цитокины; нейроиммунные взаимодействия.

## THE EFFECT OF CHRONIC EMOTIONAL AND PHYSICAL STRESS ON THE NEUROENDOCRINE AND IMMUNE SYSTEMS

I.A. Yankelevich<sup>1,2</sup>, T.A. Filatenkova<sup>1,2</sup>, M.V. Shustov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Yankelevich IA, Filatenkova TA, Shustov MV. The effect of chronic emotional and physical stress on the neuroendocrine and immune systems. *Medical Academic Journal*. 2019;19(1):85-90. <https://doi.org/10.17816/MAJ19185-90>

Received: January 18, 2019

Revised: February 18, 2019

Accepted: February 28, 2019

The aim of the presented study was to characterize the developed model of chronic stress. Most of the currently existing models of chronic stress are long, laborious, hard to employ, and also difficult to reproduce, which leads to restrictions in their use. Daily swimming in cold water for 10 days model was proposed as a model of chronic stress. The described influence led to a significant involution of the thymus, an increase in the expression of the interleukin-4 (*IL-4*) and interleukin-6 (*IL-6*) genes in the thymus, and its decrease in the hypothalamus, a change in behavioral reactions, as well as a multiple increase in the blood concentration of corticosterone in the experimental animals. The data suggest that repeated swimming in cold water in experimental animals causes changes in the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal system, the immune system, and also demonstrate the possibility of using the presented model as a model of chronic stress.

**Keywords:** chronic stress; thymus involution; corticosterone; cytokines; neuroimmune interactions.

### Введение

Стресс является одним из наиболее распространенных дестабилизирующих воздействий, сопровождающих организм на протяжении всей жизни. Физиологическая направленность стресса заключается в усилении адаптивных

реакций организма, обеспечивающих поддержание его гомеостаза и сохранение здоровья, отсюда и еще одно название стресс-реакции — общий адаптационный синдром.

В ситуациях, когда стрессирующее воздействие продолжается длительное время и орга-

### Список сокращений

IFN- $\gamma$  — интерферон- $\gamma$ ; IL-1 — интерлейкин-1; IL-4 — интерлейкин-4; IL-6 — интерлейкин-6; TNF- $\alpha$  — фактор некроза опухолей- $\alpha$ ; ГГНС — гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система; ГК — глюкокортикоидные гормоны; кДНК — комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота; ПЦР — полимеразная цепная реакция; РНК — рибонуклеиновая кислота; ЦНС — центральная нервная система.

низм истощает все свои адаптивные резервы, наступает «стадия истощения», на которой наблюдается угнетение активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadrenalовой систем, что приводит к подавлению многих защитно-приспособительных реакций организма [1].

Исследования, направленные на изучение изменений в иммунной системе под воздействием стресса, традиционно фокусируются на взаимодействии между центральной нервной, эндокринной и иммунной системами. Регуляция иммунного ответа ЦНС опосредована сетью сложных сигналов, которые функционируют двунаправленно.

К настоящему времени накоплено множество данных о влиянии стресса на продукцию цитокинов в организме. Например, было показано, что при стрессе повышается продукция провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 (IL-1), фактор некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), интерлекин-6 (IL-6) [2]. В то же время существуют данные, что такие провоспалительные цитокины, как IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , могут являться активаторами функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) [3].

С другой стороны, одна из классических реакций организма на стресс — выброс глюкокортикоидных гормонов, к физиологическим эффектам которых относят мобилизацию энергетических ресурсов организма путем усиления гликонеогенеза, увеличения сердечно-сосудистого тонуса, противовоспалительное действие, сдерживание долгосрочных реакций, протекание которых не является необходимым во время преодоления кризиса (питание, пищеварение, рост и размножение). При этом важно, что с точки зрения взаимодействия нервной и иммунной систем глюкокортикоиды рассматриваются как основные эффекторные молекулы ГГНС, регулирующие иммунный ответ при стрессе [4].

Традиционно считается, что ГК оказывают в основном иммуносупрессирующее действие, угнетая по принципу отрицательной обратной связи продукцию многих цитокинов и медиаторов воспаления, таких как IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , и стимулируя продукцию противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4, IL-10 и IL-13 [5]. Запускаемый комплекс реакций в целом ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов и ограничивает степень воспаления [6]. Иммуномодулирующий эффект гормонов может реализовываться не только прямым путем, через связывание гормона со своим рецептором, но и опосредованно, например, вызывая нарушения в регуляции продукции цитокинов [7].

Одной из традиционно оцениваемых характеристик стресс-индуцированных изменений активности нервной системы является перестройка паттернов поведения индивида. Среди возможных причин этих изменений выделяют и нарушение регуляторных сигналов иммунной системы [8].

В целом чрезмерные и длительные стрессорные воздействия, сопровождающиеся, в частности, гиперпродукцией глюкокортикоидных гормонов, а также дерегуляцией продукции цитокинов, вызывают различные метаболические нарушения, чрезмерно подавляют иммунную систему, что в комплексе приводит к развитию различных форм патологии как инфекционной, метаболической, так и психоэмоциональной природы [9]. По этой причине исследования в области нейро-эндокринно-иммунных взаимодействий при стрессе представляют собой важную медико-биологическую задачу.

Для этих целей в настоящий момент разработано большое количество экспериментальных моделей. В то время как модели острого стресса отличаются кратковременностью, высокой степенью воспроизводимости, а также низкой трудозатратностью при исполнении, модели хронического стресса зачастую связаны с многоэтапными, трудновоспроизводимыми, комбинированными, длительными воздействиями, поэтому, ввиду актуальности исследования механизмов реализации патогенеза стресса, развития стресс-опосредованных форм патологии, а также исследований в области изучения нейроиммунных взаимодействий, разработка новых адекватных методологий хронического стресса является важной задачей.

## Материалы и методы

Работа выполнена на взрослых крысах-самцах породы Wistar массой 290–310 г. Животных содержали в виварии в стандартных условиях (согласно стандартам содержания лабораторных животных), со свободным доступом к пище и воде и с 12-часовым световым циклом.

В качестве модели хронического стресса использовали модель плавания в холодной воде. В течение 10 дней, без перерывов, животных помещали в бассейн с водой температурой 0–4 °C на 2 минуты. Время подбирали исходя из активности плавания животных в бассейне. Процедуру повторяли каждый день в одно и то же время для того, чтобы исключить влияние циркадных ритмов на иммунную систему, поведение и гормональный фон экспериментальных животных. В качестве контрольных животных брали крыс, не подвергавшихся никаким воздействиям.

После плавания животных высушивали и помещали в домашние клетки на сухие опилки. После окончания десятидневной процедуры стрессирования, на 11-й день, животных выводили из эксперимента декапитацией, извлекали и взвешивали тимус, извлекали гипоталамус, а также собирали сыворотку крови для анализа концентрации кортикостерона. Концентрацию гормона анализировали методом иммуноферментного анализа, набор для которого был предоставлен фирмой DRG Diagnostics.

Из тимусов и гипоталамусов выделяли РНК (Gene Elute Mammalian total RNA mini preparation kit, Sigma-Aldrich), методом обратной транскрипции синтезировали кДНК (BioRad, iScript cDNA Synthesis Kit) и методом ПЦР в реальном времени определяли относительную степень экспрессии генов *IL-4* и *IL-6* при помощи готовой смеси реактивов Thermo Scientific Maxima SYBR Green qPCR Master mix (2X). Степень экспрессии генов оценивали относительно степени экспрессии гена домашнего хозяйства глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы. Синтез праймеров осуществляла фирма Veagle (Санкт-Петербург):

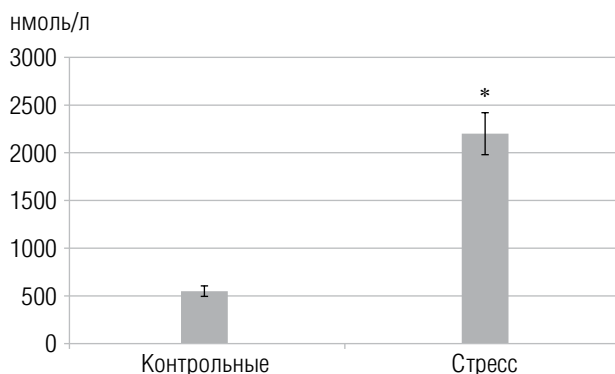
- *IL-4* прямая последовательность 5'-CGGTGAAGTGAAGAACTCTGTAGA-3';
- *IL-4* обратная последовательность 5'-TCAGTGGTGTGTGAGCGTGGACTC-3';
- *IL-6* прямая последовательность 5'-TCAACTCCATCTGCCCTTCAG-3';
- *IL-6* обратная последовательность 5'-AAGGCAACTGGCTGGAAGTCT-3';
- *GAPDH* прямая последовательность 5'-CCTGCACCACCAACTGCTTAGC-3';
- *GAPDH* обратная последовательность 5'-GCCAGTGAGCTTCCCGTTCAGC-3'.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 по *U*-критерию Манна – Уитни.

Для анализа развития депрессивного и подавленного состояния использовали поведенческий тест «открытое поле». Для этого животное помещали в центр ярко освещенной круглой арены, разделенной на секторы, с норками, расположенными по всей площади арены. Поведение регистрировали в течение 5 минут и анализировали в полуавтоматическом режиме по видеозаписи при помощи компьютерного обеспечения VideoMot 2.0 (TSE Systems, Германия).

## Результаты и обсуждение

Глюкокортикоидные гормоны, как известно, одни из первых реагируют на стрессорное воздействие резким увеличением концентрации. Этот механизм направлен на мобилизацию всех систем организма с целью наиболее опе-



**Рис. 1.** Концентрация кортикостерона (нмоль/л) в сыворотке крови экспериментальных животных, не подвергавшихся стрессорному воздействию, а также после аппликации хронического стресса. \* $p < 0,05$  по сравнению с интактными животными

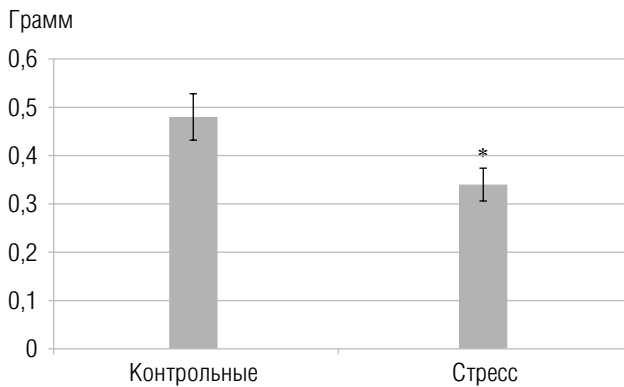
**Fig. 1.** The concentration of corticosterone (nmol/L) in the serum of experimental animals not exposed to stress, as well as after the application of chronic stress. \* $p < 0.05$  in compare with intact animals

ративного избегания стрессогенной ситуации. Особенно сильно концентрация глюкокортикоидных гормонов возрастает в период острого стресса. Однако длительная гиперстимуляция системы глюкокортикоидных гормонов может приводить к торможению других систем организма, например иммунной. Так, измененный профиль глюкокортикоидов может влиять на нарушение метаболических процессов, изменение адекватного поведения «избегания», способствовать развитию депрессии [10].

Таким образом, уровень глюкокортикоидных гормонов (а в случае исследований на крысах — кортикостерон) является важным показателем, характеризующим развитие стрессорной реакции, а также патологических процессов в организме в целом.

В ходе эксперимента на 11-й день после окончания процедуры стрессирования было получено многократное увеличение концентрации кортикостерона в крови экспериментальных животных (рис. 1). Поскольку в день забора материала стрессорные воздействия уже не предъявлялись, из представленных данных можно заключить, что использованная модель хронического стресса приводит к продолжительной гиперстимуляции системы ГНС.

Несмотря на непродолжительность стрессорного воздействия по сравнению с большинством методик, которые предусматривают целый комплекс воздействий, предъявляемых значительно более длительный период времени, были получены достоверные изменения массы тимуса (рис. 2). Тимус представляет собой один из центральных органов иммунной системы, в котором происходят дифференцировка



**Рис. 2.** Масса тимуса животных после применения модели хронического стресса. \* $p < 0,05$  по сравнению с интактными животными

**Fig. 2.** The mass of the thymus of animals after applying the model of chronic stress. \* $p < 0.05$  in compar with intact animals

и клонирование иммунокомпетентных клеток. С возрастом этот орган подвергается естественной инволюции, с чем напрямую связывают снижение активности иммунной системы. Как известно, изменение массы тимуса является одним из основных и базовых параметров для оценки тяжести хронического стресса [11].

Одно из важных проявлений последствий стрессорного воздействия — эмоциональные и поведенческие изменения. Их анализ служит диагностическим и прогностическим критерием развития патологических процессов, поэтому необходим для характеристики разработанной модели.

Для экспериментальных животных, подвергшихся воздействию хронического стресса, было выявлено увеличение количества событий грумминга, а также значительное увеличение его

продолжительности. Было также показано значительное снижение количества заглядываний в норки. Это свидетельствует о развитии у экспериментальных животных подавленного, тревожного состояния и снижении исследовательской и познавательной активности (табл. 1).

У группы животных после экспериментального хронического стресса сокращалась общая дистанция пробега, что также может свидетельствовать о снижении исследовательской активности и развитии подавленного состояния. Стоит отметить, что модель экспериментального хронического стресса не имела достоверного влияния на скорость передвижения (табл. 2).

Как уже было сказано выше, стресс оказывает сильнейшее дестабилизирующее воздействие на организм, выводит из состояния гомеостаза все системы, в том числе иммунную. Для оценки наличия изменений в функционировании иммунной системы была проанализирована экспрессия генов *IL-4* и *IL-6* в тканях гипоталамуса и тимуса экспериментальных животных.

Благодаря анализу относительной степени экспрессии генов *IL-4* и *IL-6* в тканях тимуса было выявлено значительное увеличение этого показателя для обоих генов, что свидетельствует об увеличении активности генов, кодирующих эти цитокины (рис. 3).

Следует отметить, что увеличение степени экспрессии гена провоспалительного цитокина *IL-6* намного более значительное, чем увеличение этого показателя для противовоспалительного цитокина *IL-4*. Известно, что при стрессе стимуляция системы провоспалительных цитокинов сменяется активацией системы противовоспалительных цитокинов,

Таблица 1 / Table 1

**Эмоциональное и исследовательское поведение животных, подвергавшихся экспериментальному хроническому стрессу**

**Emotional and exploratory behavior of animals under experimental chronic stress**

Группа животных	Грумминг, кол-во событий	Продолжительность грумминга, с	Норки, кол-во событий заглядывания
Контрольные	7 ± 0,7	27 ± 8	8,3 ± 3,2
Стресс	11,2 ± 1,2*	85 ± 27*	3 ± 1,4*

Примечание. \* $p < 0,05$  по сравнению с показателем у контрольной группы животных.  
Note. \* $p < 0.05$  in compare with the control group of animals.

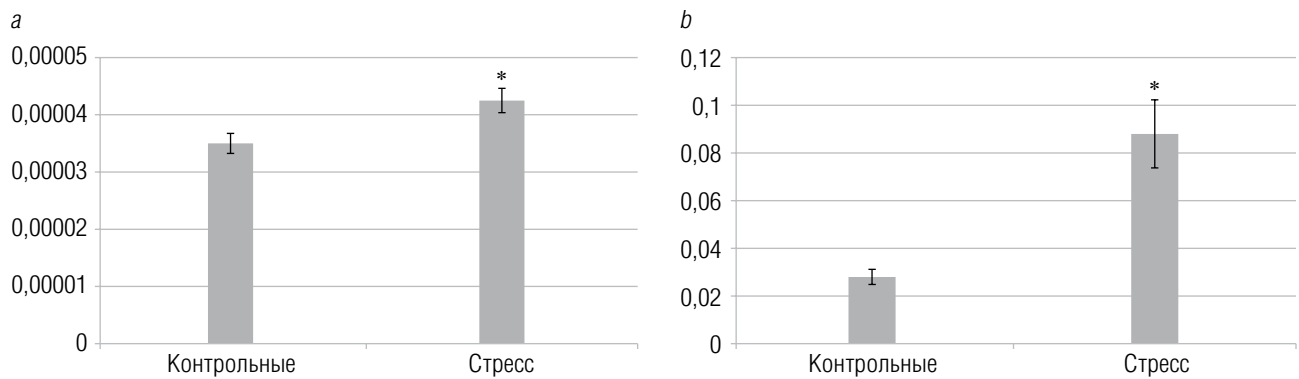
Таблица 2 / Table 2

**Двигательная активность животных, подвергавшихся экспериментальному хроническому стрессу**

**Movement of animals under experimental chronic stress**

Группа животных	Длина пробега, м	Скорость пробега, см/с
Контрольные	18,8 ± 1,6	5,5 ± 2,3
Стресс	14,6 ± 0,9*	4,9 ± 1,9

Примечание. \* $p < 0,05$  по сравнению с показателем у контрольной группы животных.  
Note. \* $p < 0.05$  in compare with the control group of animals.



**Рис. 3.** Относительная степень экспрессии генов *IL-4* (a) и *IL-6* (b) в тимусах экспериментальных животных, не подвергавшихся стрессорному воздействию, а также после аппликации хронического стресса. \* $p < 0,05$  по сравнению с контрольными животными

**Fig. 3.** Expression of the genes *IL-4* (a) and *IL-6* (b) in the thymus of experimental animals that were not subjected to stress, as well as after the application of chronic stress. \* $p < 0.05$  in compare with control animals

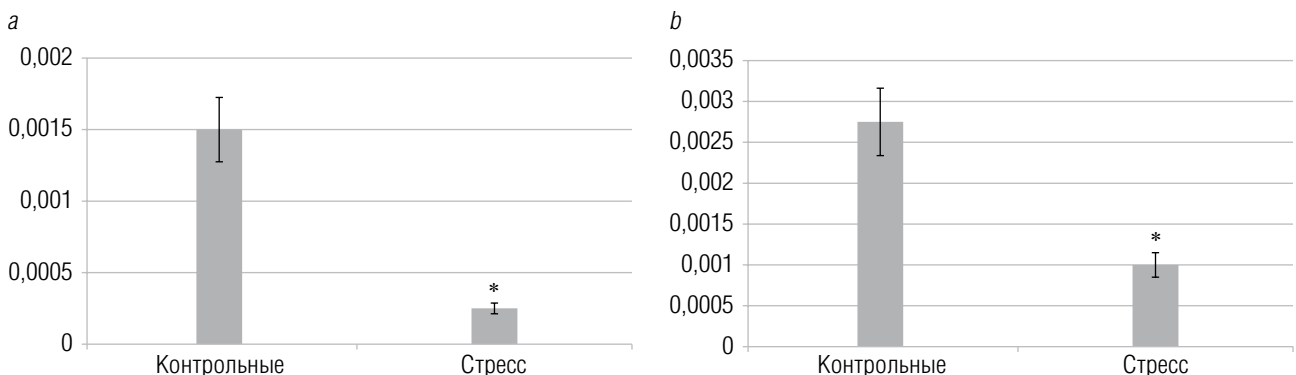
чтобы ограничить чрезмерное воспаление. Из полученных данных можно сделать вывод, что, несмотря на увеличение активности гена противовоспалительного *IL-4*, активность гена провоспалительного *IL-6* в несколько раз выше. Это может свидетельствовать о цитокиновом дисбалансе и нарушении сигнальных взаимодействий между про- и противовоспалительными цитокинами.

Помимо анализа экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов в тимусе, был произведен анализ экспрессии генов перечисленных цитокинов и в структурах тканей ЦНС, а именно в гипоталамусе. В результате было показано значительное снижение активности экспрессии генов *IL-4* и *IL-6* в тканях гипоталамуса после аппликации хронического стресса по сравнению с контрольной группой животных (рис. 4). Важно подчеркнуть, что выявленный эффект противоположно направлен показанному повышению активности этих генов в тимусе.

Так как цитокины могут участвовать в регуляции поведенческих реакций, в том числе могут быть вовлечены в регуляцию синаптической пластичности, нейрональной трансмиссии и  $Ca^{2+}$ -сигналинга, можно предположить, что наблюдаемые стресс-индуцированные изменения в паттернах поведения экспериментальных животных могут быть связаны с изменениями в экспрессии генов исследуемых цитокинов [12].

### Заключение

В результате проведенного исследования были выявлены значимые изменения в функционировании нейроэндокринной и иммунной систем при многократной аппликации эмоционально-физического стресса экспериментальным животным. Анализ нейроэндокринных характеристик экспериментальных животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию, показал, что депрессивно-подавлен-



**Рис. 4.** Относительная степень экспрессии генов *IL-4* (a) и *IL-6* (b) в гипоталамусах экспериментальных животных, не подвергавшихся стрессорному воздействию, а также после аппликации хронического стресса. \* $p < 0,05$  по сравнению с контрольными животными

**Fig. 4.** Expression of the *IL-4* (a) and *IL-6* (b) genes in the hypothalamus of experimental animals not subjected to stress, as well as after the application of chronic stress. \* $p < 0.05$  in compare with control animals

ное состояние вносит свой вклад в изменения поведенческих паттернов, а также в гиперпродукцию глюкокортикоидного гормона — кортикостерона. Благодаря изучению иммунного ответа на хроническое стрессорное воздействие в рамках разработанной модели было установлено достоверное снижение массы тимусов экспериментальных животных, а также повышение экспрессии генов цитокинов *IL-6* и *IL-4* в этой ткани. В то же время экспрессия генов указанных цитокинов в тканях гипоталамуса, напротив, значительно снижалась, что косвенно может свидетельствовать о роли указанных цитокинов в регуляции ответа ЦНС на стресс. В комплексе полученные данные позволяют заключить, что представленная модель отвечает параметрам хронического стресса и может быть использована для дальнейших исследований, в том числе при изучении механизмов реализации нейроиммунных взаимодействий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00312.

## Литература

1. Everly GS, Lating JM. A clinical guide to the treatment of the human stress response. New York: Springer; 2013. 456 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5538-7>.
2. Newton TL, Fernandez-Botran R, Lyle KB, et al. Salivary cytokine response in the aftermath of stress: An emotion regulation perspective. *Emotion*. 2017;17(6):1007-1020. <https://doi.org/10.1037/emo0000156>.
3. Black PH. Central nervous system-immune system interactions: psychoneuroendocrinology of stress and its immune consequences. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994;38(1):1-6. <https://doi.org/10.1128/aac.38.1.1>.
4. Padgett DA, Glaser R. How stress influences the immune response. *Trends Immunol*. 2003;24(8):444-448. [https://doi.org/10.1016/s1471-4906\(03\)00173-x](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(03)00173-x).
5. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853-859. <https://doi.org/10.1038/nature01321>.
6. Kadmiel M, Cidowski JA. Glucocorticoid receptor signaling in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34(9):518-530. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.07.003>.
7. Webster JL, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:125-163. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.082401.104914>.
8. Haarman BC, Riemersma-Van der Lek RF, de Groot JC, et al. Neuroinflammation in bipolar disorder — A [(11)C]-(R)-PK11195 positron emission tomography study. *Brain Behav Immun*. 2014;40:219-225. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.016>.
9. Солодков А.П., Яцковская Н.М. Стресс, адаптация и цитокины // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса: Материалы международной научно-практической конференции; Витебск, 10 июня 2010 г. — Витебск, 2010. — С. 13–19. [Solodkov AP, Yatskovskaya NM. Stress, adaptatsiya i tsitokiny. In: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference “Fundamental’nye i prikladnye problemy stressa”; Vitebsk; 10 Jun 2010. Vitebsk; 2010. P. 13-19. (In Russ.)]
10. Abelson JL, Khan S, Liberzon I, Young EA. HPA axis activity in patients with panic disorder: review and synthesis of four studies. *Depress Anxiety*. 2007;24(1):66-76. <https://doi.org/10.1002/da.20220>.
11. Старская И.С., Полевщиков А.В. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе // Иммунология. — 2013. — Т. 34. — № 5. — С. 271–277. [Starskaya IS, Polevshchikov AV. Morphological aspects of atrophy of the thymus under stress. *Immunologiya*. 2013;34(5):271-277. (In Russ.)]
12. Vitkovic L, Bockaert J, Jacques C. “Inflammatory” Cytokines. *J Neurochem*. 2001;74(2):457-471. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.740457.x>.

## Сведения об авторах / Information about the authors

**Ирина Алексеевна Янкевич** — канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург. SPIN-код: 9249-6844. E-mail: rina.yankevich@pharminnotech.com.

**Татьяна Александровна Филатенкова** — научный сотрудник, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург. SPIN-код: 4198-3636. E-mail: lero269@gmail.com.

**Марк Васильевич Шустов** — студент, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет». E-mail: shustovmark99@gmail.com.

**Irina A. Yankelevich** — PhD in Biological Sciences, Senior Research Fellow, Assistant Professor, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. SPIN-code: 9249-6844. E-mail: rina.yankevich@pharminnotech.com.

**Tatyana A. Filatenkova** — Research Fellow, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. SPIN-code: 4198-3636. E-mail: lero269@gmail.com.

**Mark V. Shustov** — Student, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: shustovmark99@gmail.com.

## ✉ Контактное лицо / Corresponding author

**Татьяна Александровна Филатенкова / Tatyana A. Filatenkova**  
E-mail: lero269@gmail.com