

УДК 577.152:615.27.015.44

*А.М. Кудлаева, М.А. Фомина, С.А. Исаков***ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА И L-КАРНИТИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПЕЧЕНИ КРЫС**

Целью данного исследования явилось изучение *in vitro* воздействия 5 мМ L-аргинина и 5 мМ L-карнитина на окислительную модификацию лизосомальных белков печени половозрелых интактных крыс-самок линии Wistar массой 280–330 г. В контрольных группах проводилась *in vitro* инкубация выделенных лизосом в среде выделения в течение 1, 2 и 4 час. Опытные группы инкубировали аналогичным образом в растворах 5 мМ L-аргинина и 5 мМ L-карнитина. Окислительную модификацию белков измеряли в седиментируемой лизосомальной фракции по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой. Обнаружено, что *in vitro* инкубация суспензии лизосом в среде 5 мМ L-карнитина приводит к накоплению окислительно-модифицированных производных белков при 4 часовом воздействии, не влияя на резервно-адаптационный потенциал и долю первичных и вторичных маркеров оксидативного стресса. При 1 часовой *in vitro* инкубации суспензии лизосом в растворе 5 мМ L-аргинина наблюдается значительное снижение всех типов динитрофенилгидразонов по сравнению с контролем, а также рост резервно-адаптационного потенциала. Увеличение времени инкубации в 5 мМ L-аргине до 2 и 4 час. приводит к росту уровня карбонильных производных в изучаемых пробах по сравнению с контролем, а также по сравнению с 1 часовой инкубацией, сопровождающейся снижением резервно-адаптационного потенциала относительно 1 часа инкубации.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, L-аргинин, L-карнитин, лизосомы, резервно-адаптационный потенциал.

В последние годы накоплен большой фактический материал о роли белков как основных мишеней активных форм кислорода и азота. Было установлено, что окислительная модификация белка (ОМБ) осуществляется либо путем прямого окисления аминокислотных остатков, либо через формирование активных карбонильных производных, образующихся в ходе перекисного окисления липидов и способных реагировать с остатками лизина, цистеина и гистидина. Также возможен вариант ОМБ через гликоксидацию и гликирование лизиновых и аспарагиновых остатков [1; 2]. Изучено множество обратимых и необратимых посттрансляционных модификаций белковой молекулы, которые способны значительно влиять на свойства и функции окисленного протеина [3]. Чаще всего необратимую модификацию протеинов под действием окислительного стресса связывают с возникновением ряда заболеваний, таких как сахарный диабет 2 типа, атеросклероз, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инсульт, различные виды рака. Подробное изучение механизмов окислительной/нитрозативной модификации протеинов способствует установлению взаимосвязи между патологическими проявлениями болезни и структурно-функциональными изменениями белковых молекул [4]. Особый интерес исследователей вызывает обратимая модификация белков, которую связывают с клеточной редокс-регуляцией, протекающей в нормальных физиологических условиях [3]. Было обнаружено, что обратимые посттрансляционные ОМБ (в частности, остатков цистеина) лежат в основе устойчивости клеток к ишемии. Возможно, поиск мишеней для действия обратимой ОМБ поможет получить представление о новых методах профилактики данной патологии [5].

В связи с широким участием ОМБ в ряде патологических и физиологических процессов актуальным является поиск соединений, обладающих прооксидантной и антиоксидантной активностью в отношении белковых молекул, а также подробное изучение механизмов их действия.

Целью нашего исследования явилось изучение *in vitro* влияния L-аргинина и L-карнитина на окислительную модификацию белков лизосом печени крысы.

Материалы и методы исследований

Выделение лизосом. За 12 час. до забоя половозрелых интактных крыс-самок линии Wistar массой 280–330 г лишали пищи для стандартизации условий опытов. Эвтаназия животных осуществлялась под медикаментозным наркозом при сохраненном дыхании и сердцебиении. Печень извлекали сразу после обескровливания и помещали в охлажденный 0,25 М раствор сахарозы (среда выделения). Орган промывали от остатков крови средой выделения, после чего готовили точные навески

участков печени в пределах 740-760 мг на электронных весах (AJH-220 SE, Япония). Полученный материал измельчали ножницами и помещали в стеклянный стакан гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия), добавляя холодный 0,25 М раствор сахарозы в соотношении 1:9 и гомогенизировали в течение 35 сек. тефлоновым пестиком 900 об/мин и зазоре в пределах 0.16-0.24 мм. Данные процедуры проводили при температуре не выше 4 °С. Полученные гомогенаты центрифугировали 15 мин. при 800g (центрифуга CM-6M ELMi, Латвия) для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Надосадочную жидкость отбирали пипеткой в отдельные гильзы и центрифугировали 15 мин. при 14000g для удаления митохондрий, а затем полученный супернатант – дополнительно при 20000g в течение 30 мин (центрифуга рефрижераторная К 24 Д, ГДР). Осадок, представляющий собой грубую фракцию лизосом, ресуспендировали в 2 мл среды инкубации и использовали для *in vitro* исследования.

Инкубация. Полученные суспензии лизосом в 0,25 М сахарозе разделяли на 3 серии по 6 проб в каждой:

Серия 1 (серия сравнения): 2 мл 0,25 М сахарозы.

Серия 2: 1,9 мл 0,25 М сахарозы с добавлением раствора 0,1 мл карнитина с конечной концентрацией 5 мМ.

Серия 3: 1,9 мл 0,25 М сахарозы с добавлением раствора 0,1 мл аргинина с конечной концентрацией 5 мМ.

Каждая серия воспроизводилась трижды; инкубация проводилась на водяной бане в течение 1, 2 и 4 часов при $t=37$ °С. После инкубации лизосомы повторно осаждали центрифугированием в течение 30 мин при 20000g. Затем осадок (седиментируемая фракция, СФ) ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1 % и использовали для исследования.

Окислительную модификацию белков оценивали по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [6]. По полученным данным строили спектр поглощения продуктов ОМБ и считали площадь под кривой [7], выраженной в условных единицах на грамм белка (у.е./г белка).

Содержание белка определяли по методу Лоури коммерческим набором Научно-практического центра «Эко-сервис» (Санкт- Петербург).

Резервно-адаптационный потенциал рассчитывали как разность между общей площадью под кривой карбонильных производных протеинов при металл-катализируемом окислении (принималась за 100 %) и при спонтанном окислении, выраженном в процентном соотношении [7].

Результаты предоставлялись в виде медианы Ме верхнего и нижнего квартилей [Q1; Q3]. Для проверки статистической значимости отличий значений в контрольной и опытной группах при парных сравнениях использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, а при тройных сравнениях – непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Отличия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение

Было обнаружено, что 5 мМ L-карнитин статистически значимо увеличивает уровень карбонильных производных в суспензии лизосом при 4-часовой *in vitro* инкубации по сравнению с группой контроля (рис. 1, табл. 1).

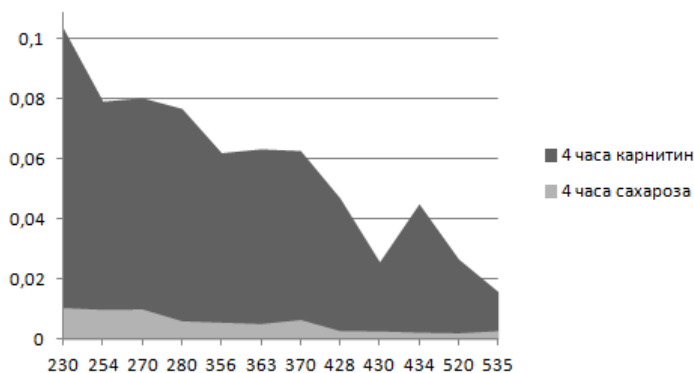


Рис. 1. Спектр окислительной модификации белков групп контроля и 5 мМ L-карнитина при 4 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Ме[Q1;Q3]

Таблица 1

Значения площадей под кривыми групп контроля и 5 мМ L-карнитина при 4 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Группа/Показатель	S АДНФГ н.	S КДНФГ н.	S АДНФГ о.	S КДНФГ о.	S общ.
5 мМ L-карнитин	5,23* [3,69;6,27]	1,90* [0,88;2,29]	1,70* [0,79;2,74]	0,26* [0,13;0,39]	9,93* [5,71;10,83]
сахароза	1,07 [0,62;1,18]	0,31 [0,30;0,51]	0,24 [0,22;0,56]	0,08 [0,05;0,10]	1,77 [1,62;1,82]
Значение P	p=0,0081	p=0,0081	p=0,0225	p=0,0225	p=0,0081

Примечание. Здесь и далее на рисунках * – статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,05).

Данная тенденция прослеживается в видимой и ультрафиолетовой частях спектра как для альдегид-динитрофенилгидразонов, так и для кетон-динитрофенилгидразонов. Можно предположить, что 5 мМ L-карнитин при данной продолжительности инкубации приводит к накоплению карбонильных производных белков как за счет окисления нейтральных, так и основных аминокислот, то есть показывает общий прооксидантный эффект в отношении белков лизосом. Считается, что окислительная модификация белка играет основополагающую роль в повреждении клеточной мембраны [8]. Не исключено, что данное предположение применимо и в отношении лизосомальных мембран. Так, ранее нами уже были получены данные о дестабилизации лизосомальной мембраны при 4-часовой *in vitro* инкубации в среде 5 мМ L-карнитина [9]. Возможно, данный эффект осуществляется за счет окислительной модификации протеинов мембраны лизосом.

Принято считать сумму альдегид-динитрофенилгидразонов ранними показателями окислительной деструкции белка, а сумму кетон-динитрофенилгидразонов – поздними маркерами, отражающими степень повреждения молекулы протеина [8]. В отношении карнитина доля первичных маркеров окисления (АДНФГ) значительно преобладает над вторичными (КДНФГ). Данное соотношение статистически значимо не меняется по сравнению с контролем на всех изучаемых временных интервалах, что может указывать на относительно постоянный уровень окислительных процессов без его усугубления (табл. 2).

Параллельно со спонтанной окислительной модификацией белков проводилось определение металл-катализируемой модификацией для оценки резервно-адаптационного потенциала [7]. Статистически значимых изменений по данному показателю для 5 мМ L-карнитина выявлено не было.

В отношении 5 мМ L-аргинина наблюдалось статистически значимое снижение уровня ОМБ при 1 часовой *in vitro* инкубации по сравнению с контрольной группой. Данный эффект сохранялся для всех исследуемых спектров ОМБ (рис. 2, табл. 3).

Таблица 2

Доля первичных и вторичных маркеров относительно общего содержания карбонильных производных белков

Группа	Продолжительность инкубации	SАДНФГ _{uv.} ÷ SАДНФГ _{vs.}	SKДНФГ _{uv.} ÷ SKДНФГ _{vs.}
сахароза (контроль)	1 час	0,87	0,13
	2 часа	0,82	0,18
	4 часа	0,79	0,21
5 мМ L-карнитин	1 час	0,80	0,20
	2 часа	0,83	0,17
	4 часа	0,78	0,22
5 мМ L-аргинин	1 час	0,85	0,15
	2 часа	0,83	0,17
	4 часа	0,91	0,09

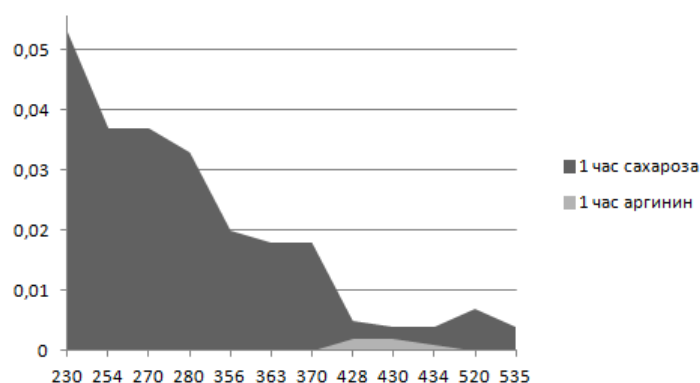


Рис. 2. Спектр окислительной модификации белков групп контроля и 5 mM L-аргинина при 1 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Таблица 3

Значения площадей под кривыми групп контроля и 5 mM L-аргинина при 1 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Группа/Показатель	S АДНФГ н.	S КДНФГ н.	S АДНФГ о.	S КДНФГ о.	S общ.
5 mM L-аргинин	0,19* [0,01;0,22]	0,06* [0,00;0,12]	0,09* [0,00;0,53]	0,01* [0,00;0,11]	0,55* [0,01;0,57]
сахараза	4,65 [4,29;4,79]	0,75 [0,45;1,05]	0,61 [0,43;0,81]	0,12 [0,09;0,13]	6,32 [5,62;6,45]
Значение P	0,012186	0,011926	0,036146	0,036146	0,012186

Кроме того, было выявлено статистически значимое увеличение РАП по сравнению с контролем при 1 часовой инкубации (рис. 3).

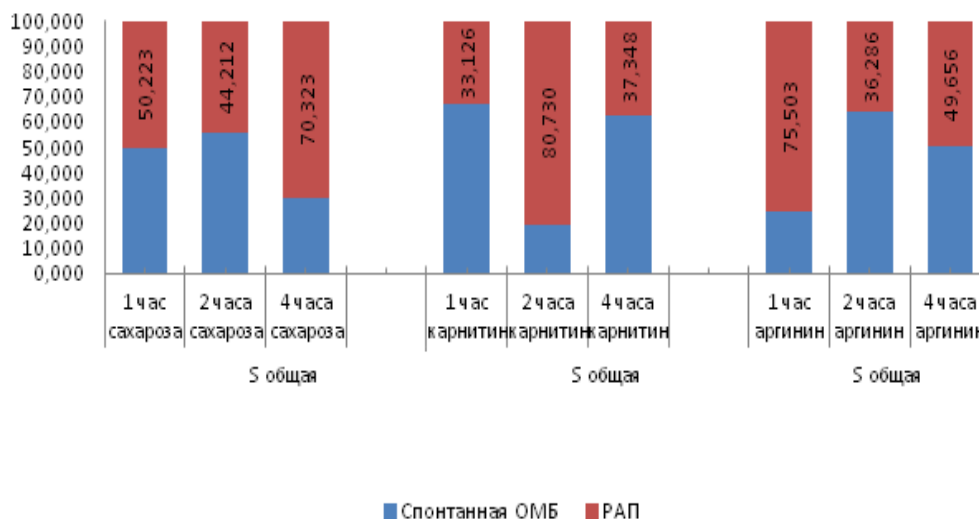


Рис. 3. Оценка резервно-адаптационного потенциала суспензии лизосом контроль/ L-карнитин / L-аргинин на исследуемых интервалах времени, %

При увеличении времени инкубации до 2 час. наблюдается тенденция к росту уровня карбоновых производных. Статистически значимо по сравнению с сахарозой увеличивается содержание кетон-динитрофенилгидразонов основного характера (рис. 4, табл. 4). Возможно, мишенью окислительной модификации в данном случае являются преимущественно остатки основных аминокислот.

Также было установлено, что 4 часовое воздействие 5 mM L-аргинина приводит к росту общей площади под кривой спектра окислительной модификации белков в основном за счет резкого увеличения уровня АДНФГ нейтрального характера (рис. 5, табл. 5).

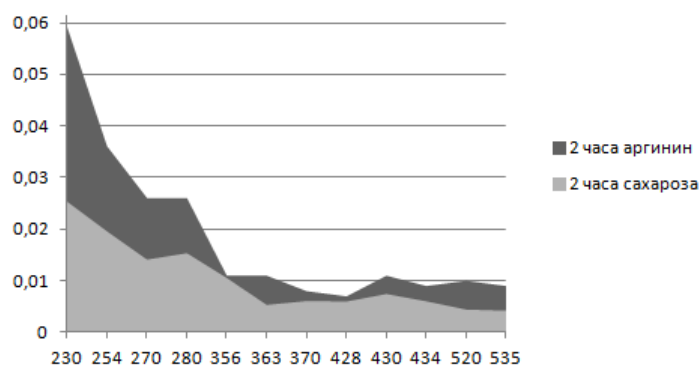


Рис. 4. Спектр окислительной модификации белков групп контроля и 5 мМ L-аргинина при 2 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Таблица 4

Значения площадей под кривыми групп контроля и 5 мМ L-аргинина при 2 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Группа/Показатель	S АДНФГ н.	S КДНФГ н.	S АДНФГ о.	S КДНФГ о.	S общ.
5 мМ L-аргинин	1,53 [2,60;4,04]	0,74 [0,38;0,99]	1,07 [0,68;1,39]	0,20* [0,15;0,26]	5,32 [4,82;5,90]
сахароза	1,78 [1,45;2,56]	0,40 [0,29;0,77]	0,44 [0,39;0,81]	0,10 [0,07;0,14]	2,90 [2,52;3,29]
Значение P	0,092697	0,471171	0,128206	0,045328	0,128206

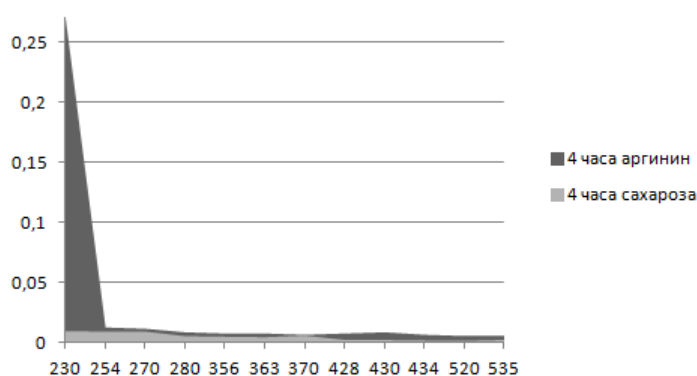


Рис. 5. Спектр окислительной модификации белков групп контроля и 5 мМ L-аргинина при 4 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Таблица 5

Значения площадей под кривыми групп контроля и 5 мМ L-аргинина при 4 часовой *in vitro* инкубации (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Группа/Показатель	S АДНФГ н.	S КДНФГ н.	S АДНФГ о.	S КДНФГ о.	S общ.
5 мМ L-аргинин	3,83 [1,55;8,08]	0,40 [0,32;0,78]	0,53 [0,52;0,61]	0,09 [0,09;0,14]	5,89* [2,92;8,88]
сахароза	1,07 [0,62;1,18]	0,31 [0,30;0,51]	0,24 [0,22;0,56]	0,08 [0,05;0,10]	1,77 [1,62;1,82]
Значение P	0,060104	0,403396	0,296271	0,296271	0,021572

При проведении тройных сравнений групп 5 мМ L-аргинина в зависимости от продолжительности инкубации было обнаружено, что уровень карбонильных производных при 1-часовом воздействии значительно меньше, чем при 2- и 4-часовом, которые статистически не отличаются друг от друга (табл. 6).

Таблица 6

Значения площадей под кривыми групп контроля и 5 мМ L-аргинина во временной динамике (у.е./г белка), Me[Q1;Q3]

Группа/Показатель	S АДНФГ н.	S КДНФГ н.	S АДНФГ о.	S КДНФГ о.	S общ.
1 час L-аргинин	0,19* ^o [0,01;0,22]	0,06* ^o [0,00;0,12]	0,09* [0,00;0,53]	0,01* [0,00;0,11]	0,55* ^o [0,01;0,57]
2 часа L-аргинин	1,53 [2,60;4,04]	0,74 [0,38;0,99]	1,07 [0,68;1,39]	0,20 [0,15;0,26]	5,32 [4,82;5,90]
4 часа L-аргинин	3,83 [1,55;8,08]	0,40 [0,32;0,78]	0,53 [0,52;0,61]	0,09 [0,09;0,14]	5,89 [2,92;8,88]

Примечание. * - статистически значимые отличия 1 часа инкубации от 2 часов инкубации (p<0,05)

- статистически значимые отличия 1 часа инкубации от 4 часов инкубации (p<0,05).

Аналогичные изменения наблюдались и при оценке резервно-адаптационного потенциала (рис. 3). Что касается доли первичных и вторичных маркеров, то статистически значимых отличий в случае с 5 мМ L-аргинином не было обнаружено (табл. 2).

Выводы

1. *In vitro* инкубация суспензии лизосом в среде 5 мМ L-карнитина приводит к накоплению окислительно-модифицированных производных белков: как альдегид-динитрофенилгидразонов, так и кетон-динитрофенилгидразонов при 4 часовом воздействии, при этом не влияет на резервно-адаптационный потенциал и долю первичных и вторичных маркеров окислительного стресса.

2. При 1 часовой *in vitro* инкубации суспензии лизосом в растворе 5 мМ L-аргинина наблюдается значительное снижение всех типов динитрофенилгидразонов по сравнению с контролем, а также рост резервно-адаптационного потенциала.

3. Увеличение времени инкубации в 5 мМ L-аргинине до 2 и 4 часов приводит к росту окислительной модификации белков в изучаемых пробах по сравнению с контролем, а также по сравнению с 1 часовой инкубацией, сопровождающемуся снижением резервно-адаптационного потенциала относительно 1 часа инкубации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Butterfield D.A., Dalle-Donne I. Redox Proteomics // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2012. Vol. 17. № 11. P. 1487-1489. DOI: 10.1089/ars.2012.4742.
- Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А., Бакенова Р.А., Култанов Б.Ж., Танкибаева Н.А., Койков В.В., Омарова Г.А. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования // *Фундаментальные исследования*. 2010. №1. С. 74-78.
- Wall S.B., Oh J.Y., Diers AR, Landar A. Oxidative Modification of Proteins: An Emerging Mechanism of Cell Signaling // *Front Physiol*. 2012. №3. P. 369. DOI: 10.3389/fphys.2012.00369.
- Dalle-Donne I., Scaloni A., Giustarini D., Cavarra E., Tell G., Lungarella G., Colombo R., Rossi R., Milzani A. Proteins as Biomarkers of Oxidative/Nitrosative Stress in Diseases: The Contribution of Redox Proteomics // *Mass Spectrometry Reviews*. 2005. Vol. 24 (1). P. 55-99.
- Zhiyou C., Liang-Jun Y. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health // *Journal of Biochemical and Pharmacological Research*. 2013. Vol. 1(1). P. 15-26.
- Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // *Вопр. медицинской химии*. 1995. Т. 41. № 1. С. 2-26.
- Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Фомина Н.В., Терентьев А.А. «Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях» заявка на патент № 2013 102618 (003624) от 21.01.13.
- Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Левицкий Е.Л., Коваленко С.И., Павлов С.В., Ганчева О.В., Марченко А.Н. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) // *Современные проблемы токсикологии*. 2005. Т. 8, № 3. С. 20-27.
- Фомина М.А., Кудлаева А.М., Рябков А.Н. Влияние L-карнитина *in vitro* на активность лизосомальных цистеиновых протеиназ и состояние лизосомальной мембраны // *Российский медико-биологический вестн. им. акад. И.П. Павлова*. 2017. Т. 25, № 1. С. 14-20. DOI:10.23888/PAVLOVJ2017114-20.

A.M. Kudlaeva, M.A. Fomina, S.A. Isakov

THE EFFECT OF L-ARGININE AND L-CARNITINE ON OXIDATIVE MODIFICATION OF LYSOSOMAL PROTEINS OF RAT LIVER

The aim of this study was to investigate in vitro effects of 5 mM L-arginine and 5 mM L-carnitine on oxidative modification of lysosomal proteins in liver of intact mature female rats of Wistar line weighing 280-330 g. In the control groups in vitro incubation of selected lysosomes was carried out in a medium of isolating solution during 1, 2 and 4 hours. Experimental groups were incubated similarly in solutions of 5 mM L-arginine and 5 mM L-carnitine. Oxidative modification of proteins was measured in sedimentary lysosomal fractions according to the method of R.L. Levine in modification of E.E. Dubinina. It was discovered that in vitro incubation of a suspension of lysosomes in the medium of 5 mM L-carnitine leads to the accumulation of oxidative-modified derivatives of proteins at 4 hours exposure without affecting reserve-adaptive capacity, and the proportion of the primary and secondary markers of oxidative stress. 1 hour in vitro incubation of a suspension of lysosomes in a solution of 5 mM L-arginine showed a significant decrease in all types of dinitrophenylhydrazones compared with control and the growth of reserve-adaptive capacity. The increase in time of incubation in 5 mM L-arginine to 2 and 4 hours leads to an increase in the level of carbonyl derivatives in the studied samples compared to control and compared to 1 hour incubation, accompanied by a reduction in reserve-adaptive capacity relative to 1 hour incubation.

Keywords: oxidative modification of proteins, L-arginine, L-carnitine, lysosomes, reserve-adaptive potential.

REFERENCE

1. Butterfield D.A. and Dalle-Donne I. Redox Proteomics, in *Antioxidants & Redox Signaling*, 2012, vol. 17, no 11, pp. 1487-1489. DOI: 10.1089/ars.2012.4742.
2. Muravleva L.Ye., Molotov-Luchansky V.B., Kluyev D.A., Bekenova R.A., Kultanov B.Zh., Tankibaeva N.A. Koikov V.V. and Omarova A. [Oxidative modification of proteins: problems and research prospects], in *Fundamental'nye issledovaniya*, 2010, no. 1, pp. 74-78 (in Russ.).
3. Wall S.B., Oh J.Y., Diers A.R. and Landar A. Oxidative Modification of Proteins: An Emerging Mechanism of Cell Signaling, in *Front Physiol.*, 2012, no 3, pp. 369. DOI: 10.3389/fphys.2012.00369.
4. Dalle-Donne I., Scaloni A., Giustarini D., Cavarra E., Tell G., Lungarella G., Colombo R., Rossi R. and Milzani A. Proteins as Biomarkers of Oxidative/Nitrosative Stress in Diseases: The Contribution of Redox Proteomics, in *Mass Spectrometry Reviews*, 2005, vol. 24, no 1, pp. 55-99.
5. Zhiyou C. and Liang-Jun Y. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health, in *Journal of Biochemical and Pharmacological Research*, 2013, vol. 1, no 1, pp. 15-26.
6. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D. A. and Porotov I. G. [Oxidative modification of proteins of human serum, the method of its determination], in *Voprosy medicinskoj himii*, 1995, vol. 41, no. 1, pp. 2-26 (in Russ.).
7. Fomina M.A., Abalenihina Y.V., Fomina N.V. and Terent'ev A.A. *Sposob kompleksnoj ocenki sodержaniya produktov OMB v tkanyah i biologicheskikh zhidkostyah* [Method of complex assessment of the content of POM products in tissues and biological fluids], Pat. 2524667 RF. MPK G01N 33/52 (in Russ.).
8. Gubsky Yu.I., Belenichev I.F., Levitsky E.L., Kovalenko S.I., Pavlov S.V., Ganchev O.V. and Marchenko A.N. [Toxicological consequences of oxidative protein modifications in different pathological conditions (literature review)], in *Sovremennye problemy toksikologii*, 2005, vol. 8, no. 3, pp. 20-27 (in Russ.).
9. Fomina M.A., Kudlaeva A.M. and Ryabkov A.N. [In vitro effect of L-carnitine on the activity of lysosomal cysteine proteases and the state of lysosomal membrane], in *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova [I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald]*, 2017, vol. 25, no. 1, pp. 14-20, DOI: 10.23888/PAVLOVJ2017114-20 (in Russ.).

Кудлаева Анна Михайловна, ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО
E-mail: anyakudlaeva@mail.ru

Фомина Мария Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО
E-mail: marya.fom@yandex.ru

Исаков Сергей Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры дерматовенерологии
E-mail: isakov11@icloud.com

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Kudlaeva A.M., Assistant at Department of Biological chemistry w/course of CLD FAPE
E-mail: anyakudlaeva@mail.ru

Fomina M.A., Candidate of Medicine, Associate Professor at Department of Biological chemistry w/course of CLD FAPE
E-mail: marya.fom@yandex.ru

Isakov S.A., Doctor of Medicine, Professor at Department of dermatovenerology
E-mail: isakov11@icloud.com

Ryazan State Medical University
Vysokovolttnaya st., 9, Ryazan, Russia, 390026