

УДК 546.47+577.1

МАГНИТНЫЙ ИЗОТОПНЫЙ ЭФФЕКТ КАК ИНСТРУМЕНТ МОДУЛИРОВАНИЯ АПОПТОЗА В ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ

М.А. Орлова, А.А. Полозников, А.П. Орлов

(кафедра радиохимии, E-mail: orlova.radiochem@mail.ru)

Определяли величину магнитного изотопного эффекта (МИЭ) с участием ^{67}Zn и цинка общего изотопного состава, доставляемых в клетки порфирина-фуллереновыми наночастицами (НЧ), как отношение соответствующих величин LD_{50} . Для лимфоцитов здоровых доноров МИЭ = 0, для бластных клеток пациентов с острым В-лимфобластным лейкозом (BALL-1) величина МИЭ составляла ~3,5, а для бластных клеток при остром миелобластном лейкозе – 1,5. Исследование с помощью конфокальной и флуоресцентной микроскопии показало апоптотическое действие препаратов, содержащих ионы цинка, причем в случае магнитного изотопа наблюдалось увеличение агрегирования наночастиц и агрегации клеток, что приводило к уменьшению цитотоксичности при сохранении магнитного изотопного эффекта.

Ключевые слова: апоптоз, магнитный изотопный эффект, цинк-67, наночастицы, порфирина-фуллерен, агрегация.

Магнитный изотопный эффект (МИЭ) был открыт для изотопов углерода как зависимость скорости реакции (или вероятности рождения молекулы) от ядерного спина, его проекции, магнитного момента и энергии электрон-ядерного (сверхтонкого) взаимодействия [1]. МИЭ приводит к фракционированию изотопов в зависимости от их магнитных моментов, и позже этот эффект был обнаружен [2] для многих пар и триад изотопов: $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$; $^{16}\text{O}/^{17}\text{O}/^{18}\text{O}$; $^{28}\text{Si}/^{29}\text{Si}/^{30}\text{Si}$; $^{32}\text{S}/^{33}\text{S}/^{34}\text{S}$; $^{72}\text{Ge}/^{73}\text{Ge}$; $^{199,201}\text{Hg}/^{200,202}\text{Hg}$; $^{24}\text{Mg}/^{25}\text{Mg}/^{26}\text{Mg}$; $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$; $^{117}\text{Sn}/^{119}\text{Sn}$. В 2004 г. МИЭ впервые наблюдался в биохимических реакциях [3, 4] креатинкиназы, когда в качестве ингибитора использовали хлорид метилртути, содержащий магнитные и немагнитные ядра ртути, что приводило к изменению активности фермента. Однако наибольший интерес вызвал МИЭ при образовании АТФ в реакции ферментативного фосфорилирования, катализируемой креатинкиназой, в активном центре которой находились либо магнитные ядра ^{25}Mg , либо немагнитные ^{24}Mg или ^{26}Mg [5]. В первом случае (^{25}Mg) выход АТФ был в два раза выше, что объясняется синглет-триплетной конверсией образующейся ион-радикальной пары со спиновым запретом обратимого процесса в триплетном канале образования АТФ [6]. При этом топология активного центра и изменение конформации (в частности, при изменении величины рН) молекулы фермента имеют большое значение [7]. МИЭ был обнаружен и для других реакций переноса фосфата, катализируемых пируваткиназой и фосфогли-

цераткиназой [8]. Известно, что реакция синтеза АТФ катализируется не только ионами магния, но и ионами кальция и цинка, причем введение магнитных ядер ^{43}Ca и ^{67}Zn также сопровождается увеличением выхода АТФ в 2–4 раза по сравнению с немагнитными [9]. Таким образом, стало очевидно, что ферментативное фосфорилирование является спин-селективным процессом, связанным с МИЭ, а фосфотрансферазы работают как молекулярные машины, контролируемые спином ионов металлов в активном центре [10].

Действие МИЭ фиксировалось и на клетках, например, клетки *E. coli*, обогащенные ^{25}Mg , быстрее адаптируются к новой питательной среде [11], а кроме того, ^{25}Mg лучше, чем немагнитные изотопы магния стимулирует восстановление популяции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* после УФ-облучения.

В настоящее время уже описаны перспективы применения МИЭ в медицине. Была разработана медицинская нанобиотехнология доставки магнитных изотопов магния в сердечную мышцу для уменьшения ацидоза в условиях гипоксии, индуцированной химиотерапией, за счет увеличения синтеза АТФ [12]. В качестве транспортеров использовали водорастворимые катионо-обменные порфиринафуллереновые (ПФ) наночастицы РМС16 [13], проникающие сквозь клеточные мембраны и способные накапливаться максимально в сердечной мышце, а также в лимфоцитах (в течение 120 ч). Последнее позволило опробовать применение МИЭ с использованием $^{67}\text{Zn}^{2+}$ (по сравнению с ионами цинка общего изотопного

пула) на РСМ16 в качестве носителя для воздействия на лейкоэмические бластные клетки, полученные из костного мозга нелеченых пациентов до 20 лет с диагнозом различных типов острого лейкоза [14]. В случае В-ОЛЛ (линия клеток BALL-1) наблюдались значимые различия в действии наночастиц, несущих как магнитные, так и общего изотопного состава ионы цинка.

В данной работе продолжено углубленное изучение МИЭ для понимания перспектив применения магнитных ядер цинка и магния в лечении острых лейкозов (В-ОЛЛ и ОМЛ) при осуществлении доставки на наночастицах порфирифуллера.

Материалы и методы

Наночастицы. В работе использовали наночастицы РСМ16 (НЧ или ПФ), бакминстер – фуллерен (C_{60}) – 2-(бутадиен-1-ил)-тетра-(*o*- γ -аминобутирил-*o*-фталил) – порфирин, полученные, как описано ранее [15]. В водном растворе с pH 7,5 в наночастицы вводили либо цинк обычного изотопного состава (Zn-НЧ, содержание магнитного изотопа ^{67}Zn составляет ~4%), либо изотоп ^{67}Zn с 96%-м обогащением (^{67}Zn -НЧ). В качестве контроля использовали наночастицы РСМ16 (НЧ), не содержащие металлов. Физико-химические характеристики НЧ описаны в работе [12].

Приготовление клеточного материала осуществляли в соответствии с методикой, описанной в [14].

Размер наночастиц определяли на приборе «Zetasizer Nano ZS» по методу динамического рассеяния света. Для визуализации использовали освещение сфокусированным лазерным лучом раствора с НЧ. Скорость броуновского движения, выраженная в виде среднеквадратичного смещения частицы за определенное время, связана с размером частицы уравнением Стокса–Эйнштейна.

Морфологические исследования. Отбирали 2 млн клеток и доводили объем раствора до 1 мл полной средой. Полная среда: 80% RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium), 20% FCS (сыворотка крови теленка), 200 мкг·мл⁻¹ гентамицина, 2 моль/л глутамин, 5 мкг·мл⁻¹ инсулина, 5 мкг·мл⁻¹ трансферрина, 5 мкг·мл⁻¹ селенита натрия. Полученную суспензию (200 мкл) переносили в пластиковые пробирки типа эппендорф (1 мл). Для окрашивания клеток добавляли по 1 мкл бромистого этидия (EtBr) и иодистого пропидия (PI), а также 50 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS). Окрашивание проводили 15 мин, после чего клетки в течение 5 мин осаждали на центрифуге (1800 об·мин⁻¹) при 20°C. Осадок клеток ресуспендировали в 200 мкл неполной среды (RPMI), и полученную суспензию (7 мкл) наносили на обезжиренное

предметное стекло, которое накрывали покровным стеклом. Образец анализировали на флуоресцентном микроскопе «LEICA DM6000B» или на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе «LSM 710» («Carl Zeiss»). Изображение фиксировали с помощью видеосистемы на основе цифровой камеры.

Для разбивания агрегатов наночастиц применяли ультразвуковую обработку (УЗ-ванна) в течение 10 мин при 21кГц и 50 Вт.

МТТ-метод основан на определении жизнеспособности клеточных культур по способности живых клеток восстанавливать растворимый желтый бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тетразолия (МТТ) митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами с образованием пурпурно-синих растворимых в ДМСО или изопропиловом спирте кристаллов формазана [16]. Количество формазана определяли спектрофотометрически на приборе «Microplate Reader 550» («Bio Rad») при $\lambda = 550$ нм. Методика проведения МТТ-теста подробно описана в [17]. Выборка составляла 10 образцов для каждого случая. Результаты обрабатывали методом U-теста Манна–Уитни ($p < 0,05$). Значения LD_{50} вычисляли с помощью медианы и *t*-критерия Стьюдента. В работе использовали концентрации препаратов от 0,032 до 100 мкг мл⁻¹.

Активность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в образцах определяли по начальной скорости гидролиза субстрата Hip-His-Leu. Измерения проводили на многоцелевом микропланшетном считывателе плашек «Tecan Infinite M200» (Австрия), определяя скорость накопления продукта реакции His-Leu с помощью *o*-фталевого альдегида [18]. В работе использовали АПФ из легких быка,

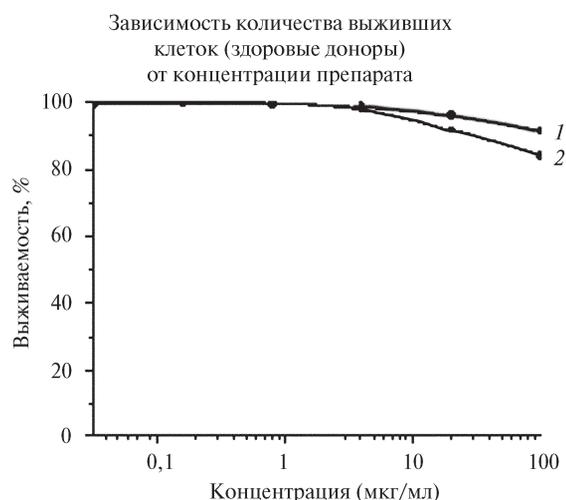


Рис. 1. Выживаемость лимфоцитов здоровых доноров (МТТ-тест) в присутствии Zn-НЧ и ^{67}Zn -НЧ (МИЭ = 0)

методика выделения которого подробно описана в [19].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 видно, что в изученном интервале концентраций препаратов лимфоциты здоровых доноров практически (в пределах ошибки эксперимента) не реагируют на введение как Zn-НЧ, так и ⁶⁷Zn-НЧ, т.е. магнитный изотопный эффект не наблюдается. Однако следует отметить, что при рассмотрении морфологии клеток, обработанных Zn-НЧ и ⁶⁷Zn-НЧ в концентрации 10 мкг мл⁻¹ (рис. 2, 3) оказалось, что в обоих случаях часть обработанных клеток гибнет путем апоптоза в отличие от необработанных клеток, 5% которых за то же время гибнет путем некроза [20]. Кроме того, наблюдается значительная агрегация клеток при обработке их наночастицами, содержащими магнитные ⁶⁷Zn-НЧ.

Бластные клетки BALL-1 пациентов с В-ОЛЛ гибнут под действием ⁶⁷Zn-НЧ при существенно меньших концентрациях препарата (рис. 4, А) по сравнению с Zn-НЧ. Величина МИЭ, как отношение соответствующих величин LD₅₀ (рис. 4, Б), в этом случае составляет ~3,5. В случае бластных клеток пациентов с ОМЛ разница в действии наночастиц с магнитным и немагнитным изотопами цинка небольшая (рис. 5), и

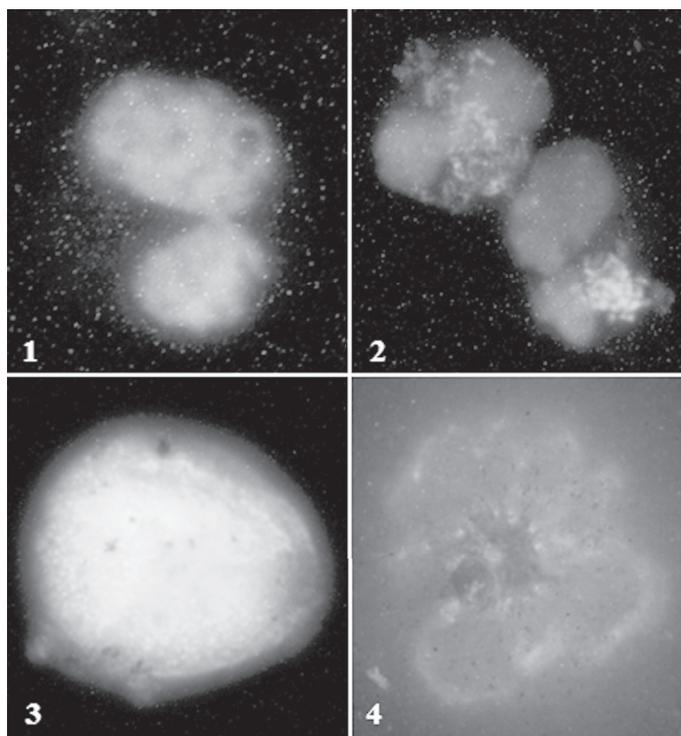


Рис. 2. Морфологические изменения в лимфоцитах здоровых доноров в присутствии ⁶⁷Zn-НЧ (концентрация препарата 10 мкг мл⁻¹, t = 3,5 ч)

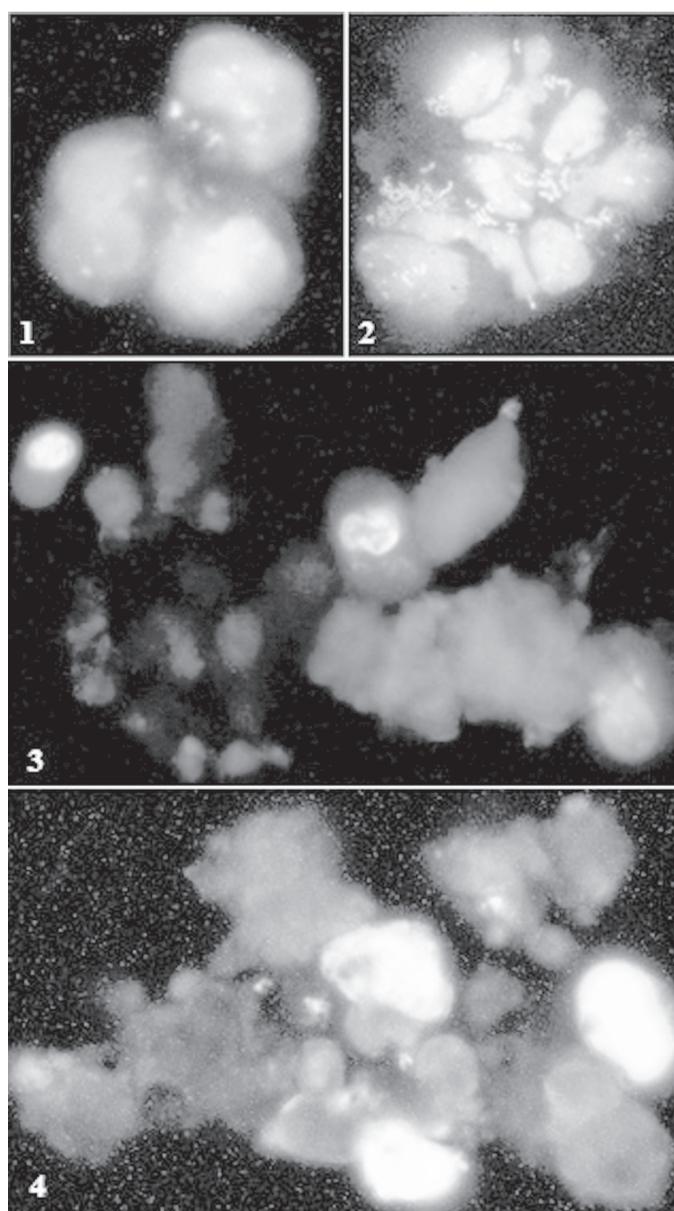


Рис. 3. Морфологические изменения в лимфоцитах здоровых доноров в присутствии Zn-НЧ (концентрация препарата 10 мкг мл⁻¹, t = 3,5 ч)

МИЭ составляет ~1,5. При этом наблюдается некоторая разница в действии препаратов на клетки пациентов в возрасте младше 10 лет и старше (данные не приведены), которая не влияет на величину МИЭ, но косвенно указывает на разнообразие возможных мишеней именно магнитных ядер.

Рассматривая НЧ-ПФ, следует учитывать не только их роль транспортеров-доставщиков, но и собственные свойства наночастиц. К настоящему времени сформировалось понимание основных параметров, имеющих принципиальное значение для медицинских применений производных фуллерена. К ним относятся в первую очередь размеры наночастиц и их способность к самоагрегации, в значи-

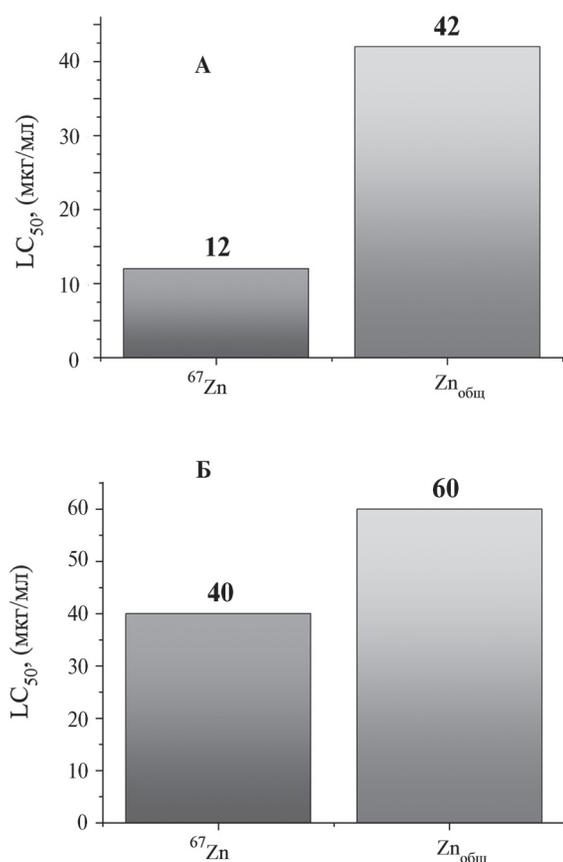


Рис. 4. Выживаемость: А – клеток BALL-1 (бластные клетки пациентов с В-ОЛЛ) под воздействием Zn-НЧ и ⁶⁷Zn-НЧ (МИЭ = 3,5); Б – бластных клеток пациентов с ОМЛ под воздействием Zn-НЧ и ⁶⁷Zn-НЧ (МИЭ = 1,5)

тельной степени связанная со строением боковых цепей и возможностью образовывать водородные связи. Размеры и форма частиц определяют морфологию агрегатов. Как правило (хотя имеются и исключения), частицы меньшего размера проявляют более высокую цитотоксичность. Это может быть связано с разными факторами, в частности, с тем, что, в основном, именно от размера зависит способность фуллереновых наночастиц встраиваться в белки, мембраны и внутрь спирали ДНК [21–23], влияя на различные сигнальные пути [24].

Мы наблюдали увеличение размеров цинк-содержащих наночастиц во времени, что показано на рис. 5, при этом цитотоксичность уменьшалась примерно в 2 раза, однако магнитный изотопный эффект по-прежнему наблюдался (рис. 6).

Для рассмотрения возможных механизмов процессов апоптоза с участием магнитных ядер изотопа цинка, доставляемых в клетки на наночастицах производных фуллерена, безусловно, следует учитывать индивидуальное действие обоих составляющих при-

меняемого вещества, т.е. как порфирифоллерена, так и ионов цинка. Известно, что цинк любого изотопного состава в условиях его дефицита или избытка проявляет концентрационно-зависимое цитотоксическое действие, реализуемое в зависимости от условий и типа клеток либо через апоптоз, либо через некроз [25]. При этом следует учитывать, что после доставки ионов цинка в клетки на фуллереновом носителе, представляющем катионообменник, и выпуске его при соответствующем значении pH [12], что и наблюдается в нашем случае, цинк может быть «захвачен» другим цинковым транспортером. После этого цинк либо помещается в цинкосомы, либо может быть задействован в последующие реакции буферирования и гашения цинка [26]. На конкурентной основе он может занимать место в активных центрах некоторых белков [27], имеющих характерные для связывания ионов цинка аминокислотные остатки, что приводит к расширению возможности его воздействия на клетку путем дополнительной (либо флукуационной, либо сигнальной) транспортировки и встраивания в «незапланированные объекты». В условиях нарушенного гомеостаза цинк является ROS (активные формы кислорода)-активирующим фактором через различные механизмы, первым из ко-

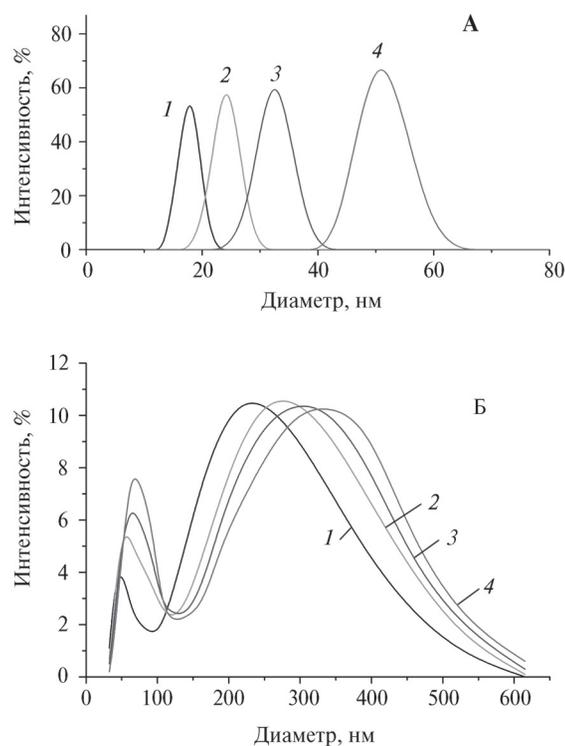


Рис. 5. Увеличение от времени размеров наночастиц, несущих ионы цинка: А – Zn-НЧ; Б – ⁶⁷Zn-НЧ (1 – после ультразвуковой обработки, 2 – через 1 неделю, 3 – через 2 недели, 4 – через 4 недели)

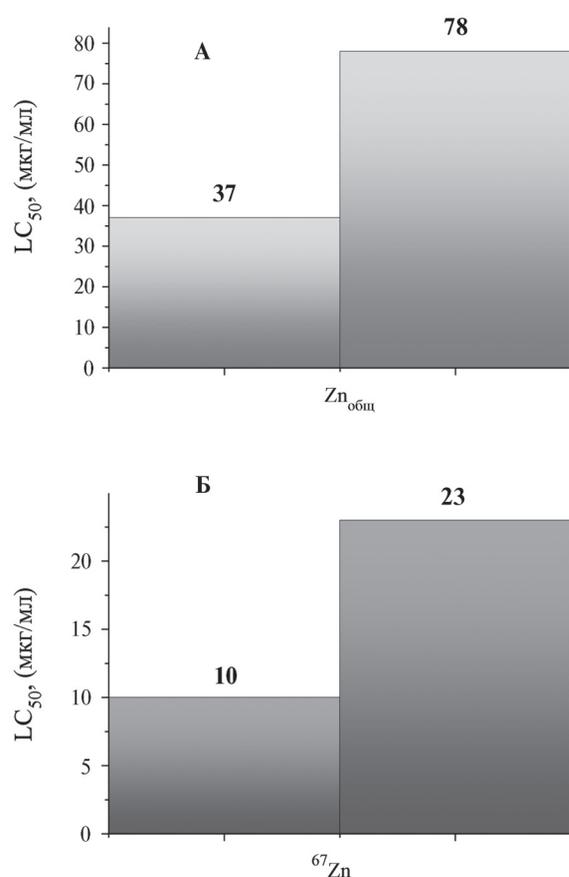


Рис. 6. Изменение цитотоксичности по отношению к клеткам BALL-1 под действием препаратов: А – Zn-НЧ и Б – ^{67}Zn -НЧ в условиях, когда после ультразвуковой обработки наночастиц прошло 1 и 4 недели соответственно

торых служит снижение антиоксидантного действия Cu,Zn-супероксиддисмутазы (SOD) за счет нарушения как ее конформационного состояния (за которое ионы цинка являются ответственными), так и ее экспрессии [25].

Замена обычного изотопного состава цинка (4,1% ^{67}Zn) на магнитные ядра ^{67}Zn может приводить к нескольким противодействующим процессам, первый из которых – увеличение выхода АТФ. Он аналогичен наблюдаемому для ионов ^{25}Mg и характерен для различных фосфотрансфераз, в каталитическом процессе которых задействованы ионы магния, цинка и кальция [8]. Таким образом, все энергетически-зависимые процессы прямо или опосредовано подпадают под воздействие магнитных ядер, причем их модуляция в зависимости от объекта может регулироваться как вверх-, так вниз. Кроме того, ионы цинка участвуют в работе ДНК-полимераз, причем замена на магнитный изотоп цинка приводит, как было недавно показано [28], к значительному падению каталитической активности ДНК-полимеразы бета. Это, соответственно, должно влиять на проли-

ферацию через p53 и далее через семейство белков Bcl-2. Ионы цинка способны также встраиваться в различные компоненты клетки, включая цинковые пальцы, где замена на магнитные ядра может приводить к изменениям. Однако в этом случае можно ожидать модуляции в таких сигнальных путях апоптоза, как Wnt; MAPK и Nrf2-Keap1.

Фуллереновый транспортер РМС16 (ПФ-НЧ) является соединением с известными параметрами биораспределения и фармакокинетики и имеет низкую токсичность [12]. Однако его морфологическое поведение при попадании в клетку, в частности способность к агрегации и созданию сложных наноструктур и супрамолекул (особенно при транспортировке магнитных ядер), неизвестно, хотя такого рода изменения могут иметь большое значение. Как видно из результатов данной работы, такая агрегация действительно происходит достаточно активно в случае ^{67}Zn -НЧ. Теоретически наши НЧ должны являться акцепторами радикалов [29], т.е. в условиях нормального гомеостаза проявлять, как и цинк, антиоксидантные свойства. Однако чистые НЧ не оказывали существенного влияния на выживаемость изучаемых клеток [14].

Таким образом, влияние МИЭ при действии цинк-содержащих наночастиц на лейкоэмические клетки выразилось: 1) в увеличении цитотоксичности в случае препарата с магнитными ядрами ^{67}Zn -НЧ; 2) в преобладании апоптотических явлений и увеличении агрегации клеток в присутствии наночастиц, несущих ионы ^{67}Zn ; 3) в случае В-ОЛЛ наблюдалось наибольшее значение МИЭ, в случае ОМЛ оно было небольшим, в случае лимфоцитов здоровых доноров влияние МИЭ не проявлялось.

Все это позволяет считать магнитный изотопный эффект перспективным инструментом для воздействия на раковые клетки крови. Дальнейший путь исследования лежит в выяснении тех мишеней *in vivo*, которые подвержены воздействию магнитного изотопа цинка, и различий здоровых и лейкоэмических клеток, возможно, способствующих более активному выпуску изотопов цинка из наночастиц, что может увеличивать эффект.

С учетом важности ренин-ангиотензиновой системы (RAS) в целом и, в частности, ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в пролиферации и канцерогенезе в данной работе рассмотрено *in vitro* влияние ^{67}Zn на активность АПФ при разных значениях pH (6,5; 7,5; 8,5). Однако ни в одном из этих случаев не наблюдалось зависимости ферментативной активности от вводимого изотопа цинка (данные не приведены), что, однако, не может исключить опосредованного участия RAS в рассмотренных процессах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Step E.N.* // Chem. Phys. Lett. 1991. 186. P. 405.
2. *Buchachenko A.L., Roznyatovsky V.A., Ivanov V.L., Ustynyuk Y.A.* // Mendel. Com. 2005. **15**. P. 4.
3. *Buchachenko A.L., Kouznetsov D.A., Shishkov A.V.* // J. Phys. Chem. A. 2004. **108**. P. 707.
4. *Kouznetsov D.A., Orlova M.A.* // Eur. J. Biochem. 2004. **271**(S1). P. 33.
5. *Buchachenko A.L., Kouznetsov D.A., Orlova M.A., Markaryan A.A.* // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2005. **102**. P. 10793.
6. *Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N., Orlova M.A.* // J. Phys. Chem. B. 2008. **112**. P. 2548.
7. *Орлова М.А., Кузнецов Д.А., Латышева А.В., Орлов А.П.* // Радиц. биол. радиоэкол. 2009. **49**. С.580.
8. *Buchachenko A.L., Breslavskaya N.N., Chekhonin V.P., Orlov A.P., Arkhangelsky S.E., Kuznetsov D.A.* // Int. Res. J. Pure Appl. Chem. 2011. **1**. P. 1.
9. *Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N., Shchegoleva L.N., Arkhangelsky S.E.* // Chem. Phys. Lett. 2011. P. 130.
10. *Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N.* // Chem. Rev. 2012. **112**. P. 2042.
11. *Koltover V.R.* // Biophysics. 2013. **58**. P. 257.
12. *Rezayat S.M., Bousheri S.V.S., Samanian B., Omidvari A.O., Tarighat S., Esmali S., Sarkar S., Amirshahi, Alyautdin R.N., Orlova M.A., Trushkov I.N., Liu P.K., Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A.* // Eur. J. Med. Chem. 2009. **44**. P. 1554.
13. *Амиршахи Н., Аляутдин Р.Н., Саркар С., Резаят С.М., Орлова М.А., Трушков И.В., Кузнецов Д.А., Бучаченко А.Л.* // Рос. Нанотехнол. 2008. **3**. С. 967.
14. *Orlova M.A., Osipova E.Yu., Roumiantsev S.A.* // British J. Med. Res. 2012. **2**. P. 21.
15. *Amirshahi N., Alyautdin R.N., Sarkar S., Rezayat S.M., Orlova M.A., Trushkov I.V., Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A.* // Int. J. Nanosci. 2008. **7**. P. 113.
16. *Veerman A.J.P., Pieters A.* // Br. J. Haematol. 1990. **74**. P. 381.
17. *Orlova M.A., Osipova E.Y., Roumiantsev S.A., Ashurko S.P.* // Russ. Chem. Bull. 2012. **61**. P. 405.
18. *Conroy J.M., Lai C.I.* // Anal. Biochem. 1978. **87**. P. 556.
19. *Kost O.A., N. V. Bovin N.V., E. E. Chemodanova E.E., V. V. Nasonov V.V., T. A. Ort T.A.* // J. Mol. Recog. 2000. **13**. P. 360.
20. *Орлова М.А., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А., Зайцев Д.А.* // Изв. АН. Сер. хим. 2013. № 4. С. 1120.
21. *Nel A., Xia T., Madler L., Li N.* // Science. 2006. **311**. P. 622.
22. *Maynard A.D., Aitken R.J., Butz T., Colvin V., Donaldson K., Oberdorster G., Philbert M., Ryan J., Seaton A., Stone V.* // Nature. 2006. **444**. P. 267.
23. *Calvaresi M., Zerbetto F.* // AcsNano. 2010. **4**. P. 2283.
24. *Portt L., Norman G., Clapp C., Greenwood M.* // Biochim. Biophys. Acta. 2011. **1813**. P. 238.
25. *Orlova M.A., Orlov A.P.* // British J. Med. Med. Res. 2011. **1**. P. 239.
26. *Colvin R.A., Holmes W.R., Fontaine C.P., Maret W.* // Metalomics. 2010. **2**. P. 297.
27. *Maret W.* // Biometalls. 2013. **26**. P. 197.
28. *Buchachenko A.L., Orlov A.P., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N.* // Nucleic Acids Res. 2013. doi: 1093/nar/gkt537.
20. *Orlova M.A., Trofimova N.P., Shatalov O.A.* // Der Pharm. Lett. 2013. **5**. P. 99.

Поступила в редакцию 30.01.14

MAGNETIC ISOTOPE EFFECT AS A TOOL OF APOPTOSIS MODULATION IN LEUKEMIC CELLS

M.A. Orlova, A.A. Poloznikov, A.P. Orlov

(division of radiochemistry, mail: orlova.radiochem@mail.ru)

Lymphocytes from healthy donors and leukemic cells of patients with acute B-lymphoblastic leukemia (BALL-1) and acute myeloid leukemia was exposed with nanoparticles bearing magnetic ($Zn-67$) and nonmagnetic (total isotope pool) nuclei of zinc. The values of corresponding magnetic isotope effects determined as the ratio of LD_{50} magnitudes of preparations with magnetic and nonmagnetic zinc isotopes was 0, 3.5 and 1.5. The morphologic studies by confocal and fluorescence microscopy showed an apoptotic death of cells under preparations and besides there was an increase in the cell aggregation and better aggregation of nanoparticles in the case of ^{67}Zn -NP, resulted in a decrease of cytotoxicity. However magnetic isotope effect was observed even in the case of aggregation.

Key words: porphyrin-fullerene nanoparticles, aggregation, zinc-67, magnetic isotope effect, B-ALL, AML, apoptosis, angiotensin-converting enzyme.

Сведения об авторах: Орлова Марина Алексеевна – вед. науч. сотр. кафедры радиохимии химического ф-та МГУ, зав. лаб. биохимии и энзимологии Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, докт. хим. наук (orlova.radiochem@mail.ru); Полозников Андрей Александрович – ст. науч. сотр. лаб. биохимии и энзимологии Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, канд. хим. наук (andrey.poloznikov@fccho-moscow.ru); Орлов Алексей Павлович – мл. науч. сотр. Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, канд. хим. наук (a.p.orlov@inbox.ru).