

Дзугкоев С.Г.¹, Можаяева И.В.¹, Гиголаева Л.В.², Тедтоева А.И.¹, Маргиева О.И.¹, Дзугкоева Ф.С.¹

Изменение биохимических показателей крови на фоне регуляторов экспрессии эндотелиальной NO-синтазы при кобальтовой интоксикации

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и Правительства РСО — Алания, отдел патобиохимии, Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 43

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 362019, РСО-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40

На фоне хронической кобальтовой интоксикации у крыс развивается окислительный стресс, сопровождающийся снижением содержания суммарных метаболитов оксида азота в сыворотке крови. Причинами понижения уровня вазодилатирующего фактора являются дефицит L-аргинина, повышение уровня ингибитора NOS-3. Выявлено снижение биодоступности оксида азота, вследствие повышения содержания окисленных липопротеинов низкой плотности (ЛНП), общего холестерина и снижение холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛВП).

Ключевые слова: окислительный стресс, оксид азота, хлорид кобальта, L-аргинин, L-NAME, NOS-3

Dzugkoev S.G.¹, Mozhayeva I.V.¹, Gigolaeva L.B.², Tedtoeva A.I.¹, Margieva O.I.¹, Dzugkoeva F.S.¹

The changes in the biochemical indices of blood in cobalt intoxication on the background of the regulators of the expression of endothelial NO-synthase

On the background of chronic cobalt intoxication in rats develops oxidative stress. This is accompanied by a decrease in the content of total metabolites of nitric oxide in the blood serum. The reasons for lower levels of the vasodilatation factor are the following: a deficiency of L-arginine and the increase in the content of the inhibitor of NOS-3. We found a decrease in the bioavailability of nitric oxide due to the increase in the content of oxidized low density lipids, total cholesterol and cholesterol-lowering lipids high density.

Key words: oxidative stress, nitric oxide, cobalt chloride, L-arginine, L-NAME, NOS-3

В условиях системного окислительного стресса при кобальтовой интоксикации нарушается функция сосудистого эндотелия, обусловленная снижением продукции эндотелиальными клетками (ЭК) важнейшего вазодилатирующего фактора оксида азота (NO), или нарушением его биодоступности [1]. Причинами пониженного уровня NO в сыворотке крови при кобальтовой интоксикации могут быть дефицит L-аргинина, снижение его доступности для фермента эндотелиальной NO-синтазы (NOS-3), повышенный уровень в плазме крови ассиметричного диметиларгинина (АДМА) — эндогенного конкурентного ингибитора NOS-3 [2], наличие в сыворотке крови окисленных ЛНП (окЛНП) и взаимодействие NO с супероксид анион радикалом с образованием пероксинитрита — сильного окислителя.

Цель исследования — изучение влияния эндогенных регуляторов экспрессии NOS-3 на гомеостаз оксида азота и показатели липидного обмена у крыс с кобальтовой интоксикацией.

Методика

Исследование проведено на крысах-самцах Вистар одной возрастной группы (10—14 мес.), массой 220—250 г, интактных и с кобальтовой интоксикацией. Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», и принципам Хельсинкской декларации (2000 г.). Все животные в течение эксперимента получали специальную безнитритную-нитратную диету (поставляемую ООО «Лабораторкорм»), сбалансированную по аминокислотному составу, минеральным веществам и витаминам. Интоксикацию хлоридом кобальта вызывали парентеральным введением $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ в дозе 2 мг/кг массы тела в течение 1 мес. В ходе эксперимента определяли: состояние

Для корреспонденции: Дзугкоев Сергей Гаврилович — д.м.н., ст. науч. сотр. отдела патобиохимии ФГБУН Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и Правительства РСО — Алания, Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 43, тел. 8-901-497-20-14. E-mail: patbiochem@mail.ru

липидного обмена по уровню общего холестерина (ХС), ХС ЛНП, ХС ЛВП, триглицеридов в крови и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах по концентрации вторичного продукта — малонового диальдегида (МДА) [3]. О состоянии антиоксидантной системы судили по активности супероксиддисмутазы (СОД) [4], каталазы [5] и концентрации церулоплазмينا (ЦП) [6] в сыворотке крови. Определяли концентрацию стабильных суммарных конечных метаболитов оксида азота (NO_2^- и NO_3^- , NO_x) в сыворотке крови [7]. Подопытные крысы были разбиты на следующие группы:

- 1) контрольные;
- 2) с кобальтовой интоксикацией;
- 3) интактные с введением L-аргинина;
- 4) с кобальтовой интоксикацией + L-аргинин;
- 5) с кобальтовой интоксикацией + L-аргинин + коэнзим Q_{10} ;
- 6) интактные с введением L-NAME;
- 7) с кобальтовой интоксикацией + L-NAME;
- 8) с кобальтовой интоксикацией + L-NAME + коэнзим Q_{10} .

В каждой экспериментальной группе было по 20 животных. L-аргинин (10 мг/кг), L-NAME (25 мг/кг), коэнзим Q_{10} (0,11 мл/100 г) вводили ежедневно парентерально в течение месяца.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Microsoft Excel 2006. Результаты представлены в виде среднего значения (Mean) и ошибки среднего (SEM). Достоверность различий между показателями контрольной и опытной групп оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученные данные показали, что на фоне интоксикации CoCl_2 происходит активация системы свободнорадикального окисления, о чём свидетельствует статистически значимое повышение концентрации МДА в эритроцитах. Активация процессов перекисного окисления липидов сопровождается изменениями активности ферментов антиокислительной системы (АОС) организма, о чём свидетельствует снижение активности СОД, повышение активности каталазы и концентрации ЦП, таким образом, активация процессов липопероксидации происходит на фоне угнетения системы антиокислительной защиты (АОЗ) клеток, что согласуется с данными других исследователей [8]. При длительном введении хлорида кобальта ксенобиотик кумулируется и вызывает значительное снижение активности фермента СОД, превращающего супероксиданион радикал O_2^- в перекись водорода.

На фоне окислительного стресса были изучены метаболические изменения под влиянием субстрата

NOS-3 L-аргинина и ингибитора NO-продуцирующего фермента — L-NAME и их комбинации с коэнзимом Q_{10} . Полученные результаты представлены в таблице. У крыс интоксикация кобальтом на фоне введения L-аргинина и L-аргинин + коэнзим Q_{10} (4-я и 5-я группы) сопровождается снижением концентрации МДА, повышением активности СОД, а каталазы и концентрация ЦП — снижаются. Эти изменения в системе ПОЛ-АОС сопровождались повышением содержания NO_x (таблица). Прирост уровня L-аргинина в крови сопровождается усиленным образованием промежуточного продукта метаболизма аргинина N^G -гидрокси-L-аргинина в ЭК, обладающего способностью ускорять реакцию окисления аргинина NOS-3, а также тормозить активность аргиназы, расщепляющей аргинин на мочевины и орнитин. Следовательно, лечение в этих группах сопровождается устранением дисбаланса в системе свободнорадикального окисления и статистически значимым повышением концентрации NO_x в сыворотке крови. При сравнении результатов, полученных под влиянием L-аргинина и комбинации L-аргинина с коэнзимом Q_{10} , обнаружилось, что наиболее высокая концентрация NO_x выявлена в группе крыс на фоне комплексного лечения (таблица). На основании этих данных можно заключить, что одной из причин снижения NO в сыворотке крови является дефицит субстрата — L-аргинина и нарушение функционирования цепи переноса электронов на уровне III комплекса — коэнзим Q_{10} — цитохром С — редуктазы. Комбинированное применение L-аргинина с коэнзимом Q_{10} способствовало угнетению процессов ПОЛ, повышению биодоступности субстрата, восстановлению физико-химических свойств мембран ЭК, что согласуется с данными литературы и нашей лаборатории [9, 10].

Для выяснения роли эндогенного конкурентного ингибитора NOS-3 — АДМА мы вводили интактным крысам и крысам с кобальтовой интоксикацией его аналог — L-NAME. Полученные данные показали, что на фоне его введения возросли показатели интенсивности ПОЛ. Так, концентрация МДА в эритроцитах увеличилась статистически значимо при одновременном снижении активности СОД, повышении активности каталазы и концентрации ЦП. Одновременно снизилась концентрация NO_x в сыворотке крови у крыс с кобальтовой интоксикацией. Это могло быть обусловлено недостаточностью одного из кофакторов реакции — тетрагидробиоптерина (BH_4), «разобщением» оксидазного и редуктазного доменов NOS-3, когда фермент вместо NO продуцирует АФК [11]. Введение коэнзима Q_{10} на фоне L-NAME способствовало устранению дисбаланса в системе ПОЛ-АОС и одновременно повышению

Изменение биохимических показателей крови на фоне регуляторов экспрессии eNOS у крыс с хронической кобальтовой интоксикацией

Показатели	МДА, нмоль/мл	СОД, ед.акт	Каталаза, мкат/л	ЦП, мг/л	NO, мкмоль	ОХС, ммоль/л	ХС ЛНП, ммоль/л	ХС ЛВП, ммоль/л
Норма	4,54 ± 0,031	88,28 ± 1,32	225,57 ± 25,77	338,6 ± 6,23	51,1 ± 0,083	1,88 ± 0,033	1,09 ± 0,031	0,67 ± 0,031
CoCl ₂	5,05 ± 0,032 ^a	63,86 ± 1,271 ^a	370,2 ± 6,11 ^a	379,2 ± 6,56 ^a	41,03 ± 0,039 ^a	3,86 ± 0,033 ^a	3,15 ± 0,01 ^a	0,502 ± 0,032 ^a
L-аргинин	4,34 ± 0,032 ^b	88,8 ± 1,37 ^b	221,72 ± 8,71 ^b	336,4 ± 6,39 ^b	53,25 ± 0,08 ^b	1,84 ± 0,029 ^b	1,04 ± 0,03 ^b	0,7 ± 0,032 ^b
CoCl ₂ L-аргинин ⁺	4,86 ± 0,031 ^b	65,4 ± 1,5 ^b	359,4 ± 6,8 ^b	359,8 ± 5,58 ^{bb}	43,14 ± 0,32 ^b	3,52 ± 0,276 ^b	2,82 ± 0,13 ^b	0,52 ± 0,027 ^b
CoCl ₂ L-аргинин ⁺ коэнзим Q ₁₀	4,5 ± 0,029 ^г	87 ± 1,92	231,12 ± 6,52	348 ± 6,21	50,2 ± 0,364 ^г	2,05 ± 0,282	1,32 ± 0,01 ^г	0,96 ± 0,03 ^г
L-NAME	4,752 ± 0,032 ^д	82,74 ± 2,77 ^д	275 ± 06,18 ^д	360,2 ± 1,157 ^д	43 ± 0,707 ^д	2,082 ± 0,010 ^д	1,114 ± 0,010 ^д	0,6528 ± 0,031 ^д
CoCl ₂ L-NAME ⁺	5,776 ± 0,07 ^е	60,56 ± 1,89 ^е	375,44 ± 6,60 ^е	382,2 ± 3,5 ^{еее}	39,56 ± 0,32 ^е	4,008 ± 0,01 ^е	3,212 ± 0,011 ^е	0,481 ± 0,031 ^{ее}
CoCl ₂ L-NAME ⁺ коэнзим Q ₁₀	4,622 ± 0,03 ^ж	72,96 ± 1,39 ^{жж}	330,62 ± 7,041 ^ж	369,82 ± 4,04 ^{жжж}	43,86 ± 0,42	2,992 ± 0,010 ^ж	2,248 ± 0,0478 ^ж	0,6024 ± 0,016

Примечание. ^a — достоверность CoCl₂ относительно нормы; ^b — достоверность норма + аргинин относительно CoCl₂ + аргинин; в — достоверность CoCl₂ + аргинин относительно CoCl₂ + L-аргинин + коэнзим Q₁₀; ^г — достоверность норма + аргинин относительно CoCl₂ + L-аргинин + коэнзим Q₁₀; ^д — достоверность норма + L-NAME относительно CoCl₂ + L-NAME; ^е — достоверность CoCl₂ + L-NAME относительно CoCl₂ + L-NAME + коэнзим Q₁₀; ^ж — достоверность CoCl₂ + L-NAME + коэнзим Q₁₀ относительно CoCl₂ + L-NAME, ^a — p<0,001; ^{aa} — p<0,01; ^{aaa} — p<0,05

концентрации NOx (таблица). Следовательно, коэнзим Q₁₀, угнетая образование активных метаболитов кислорода, способствует, возможно, регенерации восстановленной формы тетрагидробиоптерина, обеспечивает «сопряжение» молекулярного O₂ с окисленным L-аргинином, а также поддерживает стабильность молекулы фермента.

На транспорт L-аргинина в ЭК оказывают влияние окЛНП и лизофосфатидилхолин. В связи с этим, в другом варианте исследований определяли уровни общего ХС и холестерина входящего в состав липопротеинов отдельных классов. Данные показали статистически значимое повышение концентрации общего ХС и ХС ЛНП, триглицеридов, снижение уровня ХС ЛВП, у крыс с кобальтовой интоксикацией на фоне L-NAME. Установленное увеличение содержания в крови активных форм кислорода (АФК) и вторичного продукта ПОЛ — МДА может вызвать окислительную модификацию ЛНП и их основного аполипопротеина (апо) В-100. Энзиматическое превращение фосфатидилхолина в лизофосфатидилхолин под действием фосфолипазы, связанной с окЛНП, способствует нарушению транспорта L-аргинина из сыворотки крови в ЭК, уменьшению образования NO и снижению его биодоступности. При введении L-аргинина крысам с кобальтовой интоксикацией было обнаружено некоторое снижение содержания общего ХС и ХС ЛНП, а комбинация L-аргинина с коэнзимом Q₁₀ вызвала статистически

значимое снижение уровней общего ХС, ХС ЛНП и повышение уровня ХС ЛВП (таблица).

Полученные результаты согласуются с данными литературы о торможении окЛНП высвобождения NO эндотелиальными клетками [12—14]. Более того, АФК обладают способностью ингибировать экспрессию eNOS и могут уменьшать продукцию NO. На фоне введения коэнзима Q₁₀ + L-NAME показано существенное снижение концентрации общего ХС, ХС ЛНП и повышение ХС ЛВП, хотя эти изменения происходят на более низком уровне по сравнению с данными на фоне комбинации L-аргинина + коэнзим Q₁₀. Результаты исследований в двух вариантах: на фоне субстрата NOS-3 — L-аргинина и ингибитора экспрессии фермента — L-NAME позволяют судить о возможном изменении уровня экспрессии NOS-3. Введение L-аргинина, возможно, повышает уровень экспрессии фермента, тогда как L-NAME способствует ингибированию этого процесса. Коэнзим Q₁₀ в обоих вариантах исследований оказывает свое положительное влияние. Эта способность коэнзима Q₁₀ подтверждается исследованиями нашей лаборатории [2, 15].

Таким образом, при кобальтовой интоксикации в условиях выраженных метаболических изменений, сопровождающихся активацией перекисных процессов, страдает система, ответственная за продукцию NO. Индуцируемый хлоридом кобальта окислительный стресс и сниженная активность защитных антиоксидантных систем, приводят к дисбалансу между

продукцией NO и нейтрализацией АФК, дефициту субстрата L-аргинина и повышению в крови концентрации ингибитора eNOS, что, возможно, играет роль в снижении уровня экспрессии eNOS в эндотелии сосудов. Сочетанное применение коэнзима Q₁₀ с L-аргинином является положительным фактором, влияющим на уровень экспрессии eNOS, изменение концентрации NO и его биодоступности, вследствие нормализации обмена холестерина.

Список литературы

1. Дзугкоев С.Г., Калоева М.Б., Дзугкоева Ф.С. Влияние комплексного лечения с коэнзимом Q₁₀ на функциональные и метаболические показатели у больных сахарным диабетом типа 1. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011; 152(9): 334-6.
2. Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С., Гуманова Н.Г., Метельская В.А. Влияние коэнзима Q₁₀, афобазола и L-карнитина и их комбинации с L-аргинином на эндотелиальную функцию у крыс с экспериментальным сахарным диабетом. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012; 11:9-53.
3. Дзугкоев С.Г., Метельская В.А., Можаяева И.В., Дзугкоева Ф.С. Влияние комплексного гомеопатического препарата, содержащего убихинон на показатели окислительного стресса и гемодинамики при экспериментальном сахарном диабете. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2010; 6 (3): 376-80.
4. Дзугкоев С.Г., Метельская В.А., Дзугкоева Ф.С. Роль оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции при СД. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2010; 8: 63-8.
5. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика*. 2003; Т.2. 71-7.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. *Лабораторное дело*. 1988; 1: 16-9.
7. Ланкин В.З. Интенсификация *in vivo* свободнорадикального окисления липопротеинов низкой плотности в плазме крови больных ИБС при терапии ингибитором HMG-CoA-редуктазы правастатином и подавление липопероксидации убихиноном Q₁₀. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2000;129(2): 176-9.
8. Макаревич О.П., Голиков П.П. *Лабораторное дело*. 1983;6: 24-7.
9. Мартынова С.Н., Горбач Т.В. Влияние солей кобальта на показатели энергетического обмена в митохондриях нефроцитов крыс. *Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: биология*. 2009; Вып. 9; №856:24-8.
10. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2005; 6:15-8.
11. Asakawa T., Matsushita S. *Lipids*. 1980. 15(3): 137-40.
12. Jay M.T., Chirico S., Siow R.C. et al. Modulation of vascular tone by low density lipoproteins: effects on L-arginine transport and nitric oxide synthesis. *Exp Physiol*. 1997; 82:49-60.
13. Plane F., Bruckdorber K.R., Kerr P. et al. Inhibition of NO-relase by lowdensity lipoproteins in vascular endothelium. *Br.J. Pharmacol*. 1992; 105; 216-22.
14. Toutouzas K., Riga M., Stefanidi E., et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other endogenous nitric

oxide synthase inhibitors as an important cause of vascular insulin resistance. *Horm Metab Res*. 2008; 40: 655-9.

15. Zulli A., Widdop B., Hare D.L. et al. High methionine and cholesterol diet abolishes endothelial relaxation. *Arterioscler. Thromb. vasc. Biol*. 2003; 23: P. 1358-63.

References

1. Dzugkoev S.G., Metel'skaya V.A., Mozhaeva I.V., Dzugkoeva F.S. Vliyanie kompleksnogo gomeopaticheskogo preparata, soderzhashchego ubikhinon na pokazateli okislitel'nogo stressa i gemodinamiki pri eksperimental'nom sakharnom diabete. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2010; 6 (3): 376-80. (in Russian)
2. Dzugkoev S.G., Metel'skaya V.A., Dzugkoeva F.S. Rol' oksida azota v formirovanii endotelial'noy disfunktsii pri SD. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2010; 8: 63-8. (in Russian)
3. Asakawa T., Matsushita S. *Lipids*. 1980. 15(3): 137-40.
4. Makarevich O. P., Golikov P.P. *Laboratornoe delo*. 1983;6: 24-7. (in Russian)
5. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. *Laboratornoe delo*. 1988; 1: 16-9. (in Russian)
6. Kamyshnikov V.S. *Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2003; T.2. 71-8. (in Russian)
7. Metel'skaya V.A., Gumanova N.G. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2005; 6:15.
8. Martynova S.N., Gorbach T.V. Vliyanie soley koba'l'ta na pokazateli energeticheskogo obmena v mitokhondriyakh nefrotsitov krys. *Vestnik Khar'kovskogo natsional'nogo universiteta imeni V.N. Karazina. Seriya: biologiya*. 2009; Vyp. 9; 856:24-8. (in Russian)
9. Dzugkoev S.G., Dzugkoeva F.S., Gumanova N.G., Metel'skaya V.A. Vliyanie koenzima Q10 , afobazola i L-karnitina i ikh kombinatsii s L-argininom na endotelial'nyuyu funktsiyu u krys s eksperimental'nym sakharnym diabedom. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2012; 11:9-53. (in Russian)
10. Lankin V.Z. Intensifikatsiya *in vivo* svobodnoradikal'nogo oksleniya lipoproteinov nizkoy plotnosti v plazme krovi bol'nykh IBS pri terapii ingibitorom HMG-CoA-reduktazy pravastatinom i podavlenie lipoperoksidatsii ubikhinonom Q₁₀. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2000;129(2): 176-9. (in Russian)
11. Plane F., Bruckdorber K.R., Kerr P. et al. Inhibition of NO-relase by lowdensity lipoproteins in vascular endothelium. *Br.J. Pharmacol*. 1992; 105; 216-22.
12. Jay M.T., Chirico S, Siow R.C. et al. Modulation of vascular tone by low density lipoproteins: effects on L-arginine transport and nitric oxide synthesis. *Exp Physiol*. 1997; 82:49-60.
13. Toutouzas K., Riga M., Stefanidi E. et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other endogenous nitric oxide synthase inhibitors as an important cause of vascular insulin resistance. *Horm Metab Res*. 2008; 40: 655-9.
14. Zulli A., Widdop B., Hare D.L. et al. High methionine and cholesterol diet abolishes endothelial relaxation. *Arterioscler. Thromb. vasc. Biol*. 2003; 23: R. 1358-63.
15. Dzugkoev S.G., Kaloeva M.B., Dzugkoeva F.S. Vliyanie kompleksnogo lecheniya s koenzimom Q10 na funktsional'nye i metabolicheskie pokazateli u bol'nykh sakharnym diabedom tipa 1. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2011; 152(9): 334-6. (in Russian)

Поступила 01.12.14

Received 01.12.14

Сведения об авторах:

Можаева Ирина Викторовна — младший научный сотрудник отдела патобиохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН и Правительства РСО — Ала́ния, Россия, e-mail: patbiochem@mail.ru

Гилолаева Лариса Владимировна — ассистент каф. общественного здоровья, здравоохранения медико-профилактического факультета государственного бюджетного образовательного учреждения ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России РСО-Ала́ния, e-mail: sogma.rso@gmail.ru

Тедтоева Анжелика Ираклиевна — соискатель отдела патобиохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН и Правительства РСО — Ала́ния, Россия, e-mail: patbiochem@mail.ru

Маргиева Ольга Ивановна — ст. лаборант отдела патобиохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН и Правительства РСО — Ала́ния, Россия, e-mail: patbiochem@mail.ru

Дзугкоева Фира Соломоновна — д.м.н., проф., зам. директора по НИР Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биомедицинских исследований ВНИЦ РАН и Правительства РСО — Ала́ния, Россия. e-mail: patbiochem@mail.ru