

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ РНК-ПРЕПАРАТА RN-13 НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА У КРЫС

З. Т. Шульгау, Ш. Д. Сергазы, Т. Н. Криворучко, Б. А. Сагиндыкова, А. Е. Гуляев

Целью исследования явилась оценка гепатопротекторных свойств РНК-препарата RN-13 на модели острого тетрахлорметанового гепатита у крыс. В эксперименте на 42 крысах оценили гепатопротекторные свойства РНК-препарата RN-13. RN-13 повышает выживаемость животных при остром тетрахлорметановом гепатите. Гепато-защитные свойства RN-13 подтверждены биохимическими и морфологическими данными. RN-13 способствует снижению активности аланинаминотрансферазы, что свидетельствует о его способности ограничивать синдром цитолиза. Морфологические исследования подтверждают способность RN-13 препятствовать разрушению ткани печени и полнокровию сосудов, сохранять радиарное строение печеночных долек, ограничивать развитие гидropической и жировой дистрофии.

Ключевые слова: тетрахлорметан, гепатит, RN-13, РНК-препарат.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых оригинальных лекарственных средств на основе рекомбинантных цитокинов, биостимуляторов и других оригинальных препаратов является чрезвычайно перспективной темой научно-исследовательских проектов во всем мире [1].

Препараты на основе рибонуклеиновых кислот из различных органов и дрожжей применялись в лечении хронических и дегенеративных заболеваний последние 60 лет [2–4].

Существует большое количество данных о применении РНК-препаратов при различных патологических состояниях. Показано, что РНК-содержащие средства могут ускорять регенерацию тканей при повреждении и репарацию в эксперименте, есть данные о возможности РНК-содержащих препаратов менять течение воспалительного процесса, регулировать проявление гиперчувствительности немедленного и замедленного типов, стимулировать субпопуляции лимфоцитов, усиливать фагоцитоз макрофагов и воздействовать на реакции организма в отношении опухолей и аллотрансплантатов [4–7]. Несмотря на значительное коли-

чество зафиксированных потенциальных терапевтических эффектов, фармакодинамика РНК-препаратов практически не описана. Между тем именно разнообразие эффектов наводит на мысль о вероятности универсальности механизма действия. В подобных случаях в качестве универсального компонента эффекта теоретически может быть так называемый цитопротекторный механизм. Прямые проявления цитопротекции довольно легко фиксируются на моделях с прямым повреждением клеток экзогенным фактором, к числу наиболее изученных токсикантов подобного рода относят тетрахлорметан (CCl₄) [8].

Цель работы – оценка гепатопротекторных свойств как частного проявления цитопротекторного эффекта РНК-препарата RN-13 на модели острого тетрахлорметанового гепатита у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явился РНК-содержащий препарат RN-13 (Dyckerhoff Pharma GmbH & Co. KG, Cologne, Germany), который помимо РНК дрожжей, содержит РНК крупного рогатого скота из следующих

INVESTIGATION OF HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF RN-13 RNA-CONTAINING DRUG WITH THE MODEL OF ACUTE TETRACHLOROMETHANE INDUCED HEPATITIS IN RATS

Z. T. Shulgau, Sh. D. Sergazy, T. N. Krivoruchko, B. A. Sagindykova, A. Ye. Gulyayev

The study objective is assessing the hepatoprotective properties of the RNA-containing drug RN-13 with a model of acute CCl₄ induced hepatitis in rats. Female rats were used to evaluate hepatoprotective properties of the RNA-containing drug RN-13. RN-13 increases the survival rate of animals with acute tetrachloromethane hepatitis. The hepatoprotective properties of RN-13 were confirmed by biochemical and morphological data. RN-13 helps reducing the activity of alanine aminotransferase, which indicates its ability to limit cytolysis syndrome. Morphological studies confirm the ability of RN-13 to prevent liver tissue destruction, preserve the radial structure of the hepatic lobes, and limit the development of hydropic and fatty degeneration.

Keywords: tetrachloromethane, hepatitis, RN-13, RNA-containing drugs.

органов: сосудистая стенка, кора головного мозга, сердце, гипофиз, гипоталамус, печень, селезенка, кора надпочечников, почки, яичники, плацента, семенники, таламус. Одна ампула препарата RN-13 объемом 5 мл содержит 6,3 мг натриевой соли рибонуклеиновой кислоты теленка и дрожжей.

Эксперименты по изучению гепатопротекторного действия РНК-препарата RN-13 проведены на 42 аутбредных крысах-самках массой 200–240 г. Крысы получены из вивария Национального центра биотехнологии. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище (*ad libitum*). Контрольные и опытные животные находились в аналогичных условиях и имели одинаковую исходную среднюю массу.

Все исследовательские работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами по обращению с животными на основе стандартных операционных процедур, которые соответствуют правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей [9]. Протокол исследования проекта «Оценка безопасности и эффективности РНК-содержащих биологически активных субстанций с геропротекторным потенциалом» одобрен 18 июня 2015 г. Локальной этической комиссией РГП «Национальный центр биотехнологии».

В первой серии экспериментов изучали параметры выживаемости на 24 аутбредных крысах-самках. Для изучения параметров выживаемости модель острого токсического гепатита воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения 50 %-го масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,4 мл/100 г массы тела животного [10]. Животные были разделены на 2 исследуемые группы: 1-я – опытная, животные с гепатитом, получавшие в качестве лечения РНК-препарат RN-13; 2-я группа – контрольная, животные с гепатитом, получающие в качестве лечения плацебо – стерильный физиологический раствор. Крысам опытной группы в течение 5 суток до и 5 суток после инъекции тетрахлорметана внутрибрюшинно вводили RN-13 в дозе 0,2 мл на крысу. Контрольным животным вводили эквивалентное количество стерильного физиологического раствора по аналогичной схеме. Наблюдение за выживаемостью осуществляли в течение 2 недель.

Во второй серии экспериментов изучали морфологические и биохимические признаки гепатопротекторного действия РНК-препарата RN-13. Эксперименты проведены на 18 аутбредных крысах-самках массой 200–240 г.

Для оценки морфологических и биохимических признаков гепатопротекторного действия РНК-препарата RN-13 модель острого токсического гепатита воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения 50 %-го масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,25 мл/100 г массы тела животного. Животные были разделены на 3 исследуемые группы:

1-я группа – животные, получающие в качестве лечения РНК-препарат RN-13. Крысам данной опытной

группы в течение 5 суток до и 5 суток после инъекции тетрахлорметана внутрибрюшинно вводили RN-13 в дозе 0,2 мл на крысу.

2-я группа – контрольные животные, получали в качестве лечения плацебо – стерильный физиологический раствор. Контрольным животным вводили эквивалентное количество стерильного физиологического раствора по аналогичной схеме.

3-я группа – интактные крысы, которым не вводили тетрахлорметан, и которые не получали последующее лечение.

На следующие сутки после последней инъекции RN-13 у крыс в сыворотке крови определяли активность аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы) и концентрации билирубина, общего белка и глюкозы, и умерщвляли их под эфирным наркозом. Осуществляли забор ткани печени для проведения гистологического исследования.

Дополнительно было проведено исследование оксидативного статуса в плазме крови крыс на приборе FRAS 4 (Evolvo s. r. l., Italy) с использованием набора d-ROMs Test (Evolvo s. r. l., Italy), который позволяет оценить количество активных форм кислорода (АФК). Общую антиоксидантную активность сыворотки крови изучали с помощью коммерческого набора Antioxidant Assay Kit (Sigma), в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы Statistica 6,0. Распределения описывали средним и стандартной ошибкой среднего. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Mann – Whitney U-test [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тетрахлорметан является наиболее известным гепатотоксином, применяемым для моделирования заболеваний печени [12]. Он подвергается микросомальному окислению при участии цитохрома P-450 с образованием электрофильных алкилирующих интермедиатов и свободных радикалов, способных индуцировать перекисное окисление липидов и модифицировать биомолекулы в результате ковалентного связывания с ними. Это сопровождается развитием тяжелого поражения печени с проявлениями синдромов цитолиза, холестаза, мезенхимального воспаления, жировой дистрофии и печеночно-клеточной недостаточности [13].

При внутрибрюшинном введении тетрахлорметана в дозе 0,4 мл/100 г массы тела животного в группе контроля через сутки после введения тетрахлорметана наблюдали гибель 67 % животных, выживаемость составила 33 %. В опытной группе, получавшей внутрибрюшинно РНК-препарат RN-13, через сутки после введения тетрахлорметана наблюдали гибель 33% животных, выживаемость составила 67%. За весь последующий период наблюдения за лабораторными животными, который составил 2 недели, гибели животных ни в контрольной, ни в опытной группах не наблюдали (рис. 1).

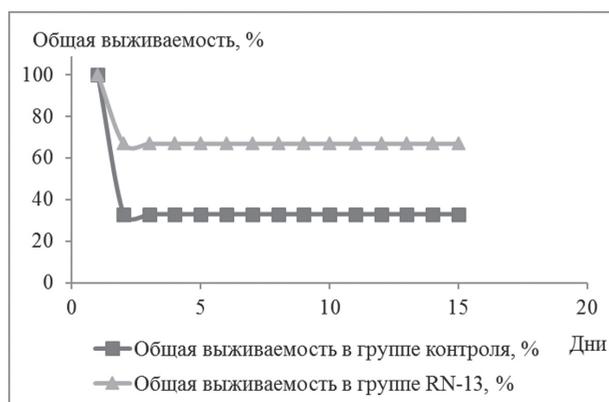


Рис. 1. Показатели выживаемости животных в контрольной и опытной группах при остром тетрахлорметановом гепатите

Таким образом, выживаемость в группе контроля составила 33 %, тогда как выживаемость в группе, получавшей РНК-препарат RN-13, составила 67 %.

Во второй серии экспериментов с целью оценки гепатопротекторного действия РНК-препарата RN-13 в отношении биохимических и морфологических пара-

метров внутрибрюшинно вводили тетрахлорметан в дозе 0,25 мл/100 г массы тела животных.

Результаты влияния РНК-препарата RN-13 на биохимические параметры сыворотки крови у крыс с острым тетрахлорметановым гепатитом представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние РНК-препарата RN-13 на биохимические параметры сыворотки крови у крыс с острым тетрахлорметановым гепатитом

Исследуемый параметр	Интактные животные, n = 6	Животные с тетрахлорметановым гепатитом, без лечения, n = 6	Животные с тетрахлорметановым гепатитом, получавшие RN-13, n = 6
АЛТ, мкмоль/с*л	0,193 ± 0,044	0,393 ± 0,045*	0,185 ± 0,041**
АСТ, мкмоль/с*л	0,234 ± 0,009	0,256 ± 0,024	0,185 ± 0,027
Билирубин, мкмоль/л	0,405 ± 0,036	0,671 ± 0,045*	0,697 ± 0,080
Общий белок, г/л	57,4 ± 2,5	59,1 ± 1,4	57,1 ± 0,9
Глюкоза, ммоль/л	7,65 ± 0,14	7,37 ± 0,17	7,30 ± 0,23

Примечание: * – уровень значимости $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; ** – $p < 0,05$ по сравнению со значениями у животных в контроле; n – количество животных в группе.

Из табл. 1 видно, что введение тетрахлорметана животным контрольной группы увеличивает активность аланинаминотрансферазы в два раза, на 65 % повышен уровень билирубина. Лечение животных с

тетрахлорметановым гепатитом РНК-препаратом RN-13 ограничивает рост аланинаминотрансферазы, что свидетельствует о способности RN-13 ограничивать синдром цитолиза (табл. 2).

Таблица 2

Антиоксидантные эффекты РНК-препарата RN-13 в условиях модели острого тетрахлорметанового гепатита у крыс

Исследуемый параметр	Интактные животные, n = 6	Животные с тетрахлорметановым гепатитом, без лечения, n = 6	Животные с тетрахлорметановым гепатитом, получавшие RN-13, n = 6
D-ROMs test, CARR U (1 CARR U = 0,08 mg/100 ml H ₂ O ₂)	285,6 ± 10,4	356,0 ± 31,6*	364,8 ± 27,0*
Общая антиоксидантная активность сыворотки крови, усл. ед.	0,21 ± 0,01	0,14 ± 0,04*	0,14 ± 0,04*

В результате проведения гистологического исследования ткани печени в интактной группе животных было выявлено, что структура не нарушена (рис. 2).

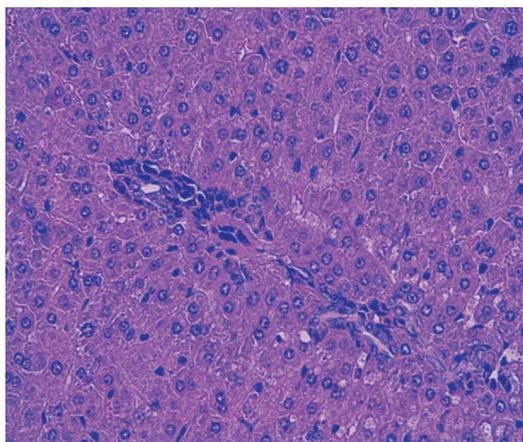


Рис. 2. Ткань печени интактных животных. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ раз. Структура не нарушена. Балочное строение гепатоцитов сохранено, умеренное полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов

Портальные тракты небольшие, наблюдается незначительная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Балочное строение гепатоцитов сохранено. Гексагональные дольки на гистологических препаратах, дающих двухмерное изображение ткани, преимущественно имеют вид шестиугольника, центром которого является центральная вена. По углам печеночных долек расположены портальные тракты. При микроскопическом исследовании в портальных трактах наблюдаются разветвления воротной вены, печеночной артерии, желчного протока, лимфатических сосудов и нервов. Печеночные дольки отделены друг от друга прослойками соединительной ткани. При морфологическом исследовании междольковая соединительная ткань развита слабо, дольки не имеют четких границ. Паренхима долек представлена радиально расположенными вокруг центральной вены печеночными бал-

ками. Радиальное строение гепатоцитов не нарушено, умеренное полнокровие центральных вен и сосудов портальных трактов.

В контрольной группе животных, у которых вызвали острый тетрахлорметановый гепатит, структура ткани печени нарушена (рис. 3). Портальные тракты фиброзированы, наблюдается резкое полнокровие сосудов портальных трактов, выраженная пролиферация желчных протоков (до 2–4 в одном портальном тракте). В портальных трактах умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных лейкоцитов. В печеночной дольке наблюдается резкое полнокровие центральной вены, умеренное полнокровие синусоидов. Центролобулярно и перипортально, диффузно гепатоциты с признаками белковой гидропической дистрофии, а также мелко- и среднекапельной жировой дистрофии.

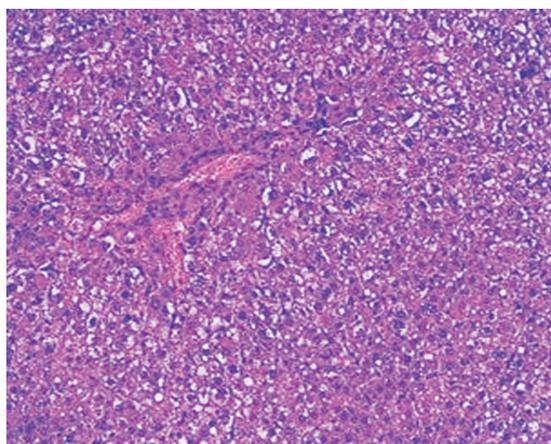


Рис. 3. Ткань печени животных с тетрахлорметановым гепатитом. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ раз. Структура нарушена. Резкое полнокровие сосудов портальных трактов, центролобулярно и перипортально гепатоциты с признаками гидропической дистрофии, а также мелко- и среднекапельной жировой дистрофии

У экспериментальных животных с острым тетрахлорметановым гепатитом, получавших в качестве лечения РНК-препарат RN-13, структура ткани печени лишь частично нарушена (рис. 4). В портальных трактах отмечается умеренное полнокровие сосудов, пролиферация желчных протоков, незначительная лимфогистиоцитарная инфильтрация. В печеночных

дольках радиальное строение гепатоцитов сохранено, отмечается умеренное полнокровие центральных вен и синусоидов. Гепатоциты преимущественно перипортально в состоянии диффузной средне- и мелкокапельной жировой дистрофии. Центролобулярные гепатоциты относительно сохранены.

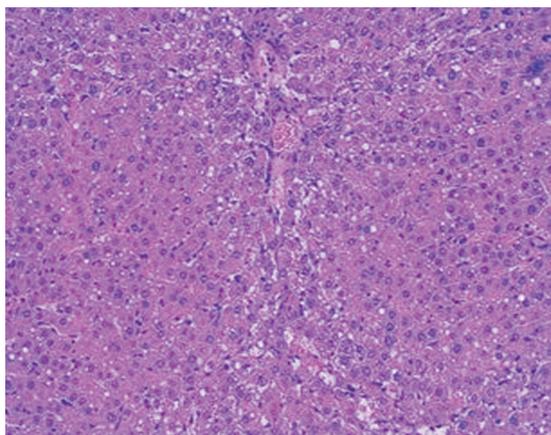


Рис. 4. Ткань печени животных с тетрахлорметановым гепатитом, получавших лечение РНК-содержащей субстанцией RN-13. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$ раз.
Структура частично нарушена. Радиарное строение сохранено, умеренное полнокровие центральных вен и синусоидов. Диффузная мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, преимущественно перипортально

Таким образом, при сравнительной характеристике исследуемых групп отмечается, что морфологические и биохимические показатели в группе, получавшей лечение РНК-препаратом RN-13, близки по аналогичным параметрам у интактных животных, что свидетельствует о наличии у РНК-содержащего препарата RN-13 гепатопротекторного действия.

В патогенезе острого токсического поражения печени большое значение отводится окислительному стрессу [14–15]. При оксидативном стрессе в первую очередь наблюдается сдвиг про-антиоксидантного равновесия в сторону усиления прооксидантной составляющей, снижение резервов мобилизации антиоксидантной защиты, что сопряжено с нарушением энергообеспечения клетки, детоксикационных механизмов, активацией апоптоза, провоспалительных цитокинов [16–17].

Поскольку окислительный стресс имеет большое значение в патогенезе острого токсического поражения печени, нами была предпринята попытка оценить антиоксидантные эффекты РНК-препарата RN-13 в условиях модели тетрахлорметанового гепатита. Результаты исследования антиоксидантных эффектов RN-13 приведены в табл. 2.

Проведено исследование антиоксидантной активности РНК-препарата RN-13 в условиях модели острого тетрахлорметанового гепатита, который протекает с генерацией свободных форм кислорода.

D-ROMs тест отражает концентрацию АФК в сыворотке крови. Мы видим, что на фоне тетрахлорметанового гепатита концентрация АФК возрастает в обеих исследуемых группах. RN-13 не способствует снижению АФК в сыворотке крови. Общая антиокси-

дантная активность сыворотки крови уменьшается на фоне гепатита. RN-13 не оказывает влияния на антиоксидантную активность сыворотки крови. Таким образом, механизм гепатопротекторного действия РНК-содержащего препарата RN-13 не связан с наличием антиоксидантного действия у RN-13. Можно сделать предположение, что реализация гепатопротекторного потенциала RN-13 может осуществляться за счет других механизмов, таких как мембраностабилизирующее действие или активация белок-синтетической функции печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, главный фармакодинамический эффект РНК-препарата RN-13 заключается в его способности повышать выживаемость животных при остром тетрахлорметановом гепатите.

Гепатозащитные свойства RN-13 подтверждены биохимическими и морфологическими данными. RN-13 способствует снижению активности аланинаминотрансферазы, что свидетельствует о его способности ограничивать синдром цитолиза. Морфологические исследования подтверждают способность RN-13 препятствовать разрушению ткани печени и полнокровию сосудов, сохранять радиарное строение печеночных долек, ограничивать развитие гидропической и жировой дистрофии.

Совокупность таких фармакодинамических эффектов характеризует РНК-препарат RN-13 как цитопротектор, а уточнение механизма данного эффекта требует продолжения исследований на моделях повреждения клеток другого типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляев А. Е., Шульгау З. Т., Сергазы Ш. Д., Ашueva З. И., Толыбекова А. А. Безопасность и переносимость гелевой формы рекомбинантного ангиогенина человека под торговым названием «Фармаген» при наружном применении у здоровых добровольцев // Вестн. СурГУ. Медицина. 2016. № 3 (29). С. 39–47.
2. Rainsford K. D. Mode of action, uses and side effects of anti-inflammatory drugs. // Advances in anti-rheumatic therapy. Rainsford : Boca Raton ; CRC Press, 1996. P. 59–111.
3. Schroeder A., Dorn M., Schuehlein K-H., von Sulecki W. Die Behandlung Degenerativer Gelenkerkrankungen // Therapiewoche. 1989. № 39. P. 2310–2315.
4. Stommel G., Schuehlein S., Schuehlein K. H., Rainsford K. D. Therapeutic Effects of Ribonucleinate (Ribonu-

- cleotides) in Immuno-Inflammatory and Arthritic Diseases // *Prog Drug Res.* 2015. № 70. P. 35–89.
5. Bernardo B. C., Ooi J. Y., Lin R. C., McMullen J. R. miRNA therapeutics: a new class of drugs with potential therapeutic applications in the heart // *Future Medicinal Chemistry.* 2015. № 7 (13). P. 1771–1792.
 6. Dogini D. B., Pascoal V. D., Avansini S. H., Vieira A. S., Pereira T. C., Lopes-Cendes I. The new world of RNAs // *Genet Mol Biol.* 2014. № 37 (Suppl. 1.). P. 285–293.
 7. Shu Y., Pi F., Sharma A., Rajabi M., Haque F., Shu D., Leggas M., Evers B. M., Guo P. Stable RNA nanoparticles as potential new generation drugs for cancer therapy // *Advanced drug delivery reviews.* 2014. № 66. P. 74–89.
 8. Recknagel R. O., Glende E. A., Dolak J. A., Waller R. L. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity // *Pharmacol Ther.* 1989. № 43 (1). P. 139–154.
 9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
 10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. М. : Медицина, 2005. 832 с.
 11. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л. : Наука, 1963. 151 с.
 12. Венгеровский А. И., Маркова И. В. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // *Ведомости фармаколог. комитета* 1999. № 2. С. 9–12.
 13. Jaeschke H., Gores G. J., Cederbaum A. I., Hinson J. A., Pessayre D., Lemasters J. J. Mechanisms of hepatotoxicity // *J Toxicol Sci.* 2002. № 65 (2). P. 166–176.
 14. Буеверов А. О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2002. № 4. P. 21–25.
 15. Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск : АРТА, 2008. 284 с.
 16. Марков Х. М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия // *Патолог. физиология и эксперимент. терапия.* 2005. № 4. С. 5–9.
 17. Коваленко Л. В., Белова Е. А. Воздействие полифенольных корректоров на основе проявления метаболического синдрома в эксперименте // *Вестн. СурГУ. Медицина.* 2016. № 1 (27). С. 13–16.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шульгау Зарина Токтамысовна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией токсикологии и фармакологии Национального центра биотехнологии, Казахстан, г. Астана; e-mail: shulgau@biocenter.kz.

Криворучко Татьяна Николаевна – научный сотрудник лаборатории токсикологии и фармакологии Национального центра биотехнологии, Казахстан, г. Астана; e-mail: krivoruchko@biocenter.kz.

Толмачева Ольга Владимировна – заведующая виварием Национального центра биотехнологии, Казахстан, г. Астана; e-mail: tolmacheva@biocenter.kz.

Сергазы Шынгыс Даулетханулы – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии, частное учреждение «National Laboratory Astana», Назарбаев Университет, Казахстан, г. Астана; e-mail: shynggys.sergazy@nu.edu.kz.

Сагиндыкова Баян Ахметовна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой технологии лекарств, Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия, Казахстан, г. Шымкент; e-mail: sagindik.ba@mail.ru.

Гуляев Александр Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, научный консультант лаборатории токсикологии и фармакологии Национального центра биотехнологии, Казахстан, г. Астана; e-mail: akin@mail.ru.

ABOUT THE AUTHORS

Shulgau Zarina Toktamysovna – PhD (Medicine), Head, Toxicology and Pharmacology Laboratory, National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan; e-mail: shulgau@biocenter.kz.

Krivoruchko Tatyana Nikolayevna – Researcher, Toxicology and Pharmacology Laboratory, National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan; e-mail: krivoruchko@biocenter.kz

Tolmacheva Olga Vladimirovna – Head, Vivarium, National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan; e-mail: tolmacheva@biocenter.kz.

Sergazy Shyngys Dauletghanuly – Junior Researcher, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Private Institution “National Laboratory Astana”, Nazarbayev university, Astana, Kazakhstan; e-mail: shynggys.sergazy@nu.edu.kz.

Sagindykova Bayan Akhmetovna – Doctor of Sciences (Pharmacology), Professor, Head, Dept. of Pharmaceutical Manufacturing Technology, South Kazakhstan State Pharmaceutical Academy, Shymkent, Kazakhstan; e-mail: sagindik.ba@mail.ru.

Gulyayev Alexandr Yevgenyevich – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Senior Researcher, Toxicology and Pharmacology Laboratory, National Center for Biotechnology, Astana, Kazakhstan; e-mail: akin@mail.ru.