© Коллектив авторов, 2022 https://doi.org/10.29296/24999490-2022-02-05

# ПЕПТИД AED АКТИВИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ И СИНТЕЗ БЕЛКОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ

Е.О. Гутоп<sup>1</sup>, Н.С. Линькова<sup>1-3</sup>, Н.В. Фридман<sup>1</sup>, Е.О. Кожевникова<sup>1</sup>, В.О. Полякова<sup>1, 4</sup>, В.Х. Хавинсон<sup>1, 5</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Российская Федерация, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3; <sup>2</sup>Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Российская Федерация, 125371, Москва, Волоколамское шоссе, д. 91; <sup>3</sup>Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Российская Федерация, 308009, Белгород, ул. Победы, д. 85, корп. 12; <sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Российская Федерация. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2; <sup>5</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Гутоп Екатерина Олеговна** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории биогеронтологии отдела биогеронтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии. Тел.: +7 (916) 254-99-82. E-mail: mgutop@mail. ru ORCID: 0000-0002-1038-7785

Линькова Наталья Сергеевна — доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии; профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, ведущий научный сотрудник лаборатории проблем старения Белгородского государственного национального исследовательского университета. Тел.: +7 (921) 311-42-10. E-mail: miayy@yandex.ru ORCID: 0000-0001-5156-5421

**Фридман Наталья Владимировна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов старения, Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии. Тел.: +7 (921) 918-18-27. E-mail: natfri@mail. ru ORCID: 0000-0001-8929-6829.

**Кожевникова Екатерина Олеговна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биогеронтологии отдела биогеронтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии. Тел.: +7 (905) 225-54-48. E-mail: katena 94@list.ru ORCID: 0000-0002-9835-694X

Полякова Виктория Олеговна — профессор РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией иммунологии старения Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии; заведующая центром молекулярной медицины Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета. Тел.: +7 (812) 230-00-49. E-mail: vopol@yandex.ru ORCID: 0000-0001-8682-9909

**Хавинсон Владимир Хацкелевич** — член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, директор Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии; руководитель группы пептидной регуляции старения Института физиологии им. И.П. Павлова. Тел.: +7 (812) 230-00-49. E-mail: khavinson@gerontology.ru ORCID:0000-0001-7547-7725

Старение фибробластов кожи обусловлено генетическими особенностями и воздействием факторов внешней среды. Одним из физиологических аспектов старения кожи является снижение регенеративной способности фибробластов дермы, в том числе их способности к дифференцировке.

**Цель** работы — изучить влияние пептида AED на дифференцировку фибробластов кожи человека при старении in vitro. Исследование проведено на клетках линии DF-1 (дермальные фибробласты человека [мезенхимные стволовые клетки]), выделенные из кожи век 37-летнего донора женского пола).

**Методы.** Для достижения репликативного старения клетки культивировали 25 пассажей. Влияние пептида AED на экспрессию генов и синтез белков ранней (Engrailed 1, PDGFRa) и поздней (Spry4, Twist2) дифференцировки фибробластов оценивали методами полимеразной цепной реакции и иммуноцитохимии.

**Результаты.** Экспрессия генов ENGRAILED1, PDGFRA, SPRY4, TWIST2 в «старых» фибробластах дермы была снижена соответственно в 1,7; 1,6; 1,5; 4,5 раза по сравнению с «молодыми» клетками кожи. Добавление пептида AED повышало экспрессию генов ENGRAILED1, PDGFRA, SPRY4, TWIST2 в «старых» фибробластах кожи соответственно в 1,9; 2,1; 2,3; 3,4 раза. Экспрессия белков Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2 в «старых» фибробластах кожи была снижена соответственно в 1,9; 2,3; 5,1; 4,3 раза по сравнению с «молодыми» клетками кожи. Добавление пептида AED увеличивало синтез белков Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2 в «старых» фибробластах соответственно в 3,3; 2,0; 2,5; 3,9 раза.

Заключение. Таким образом, пептид AED повышает функциональную активность фибробластов кожи при старении путем повышения экспрессии генов и синтеза белков дифференцировки дермальных фибробластов. Этот геропротекторный эффект пептида AED может способствовать ускорению регенерации кожи, стимуляции хемотаксиса и митоза фибробластов, синтезу в них коллагена, активации ремоделирования внеклеточного матрикса.

**Ключевые слова:** дермальные фибробласты человека, пептид AED, дифференцировка, экспрессия генов, репликативное старение

## AED PEPTIDE ACTIVATES GENE EXPRESSION AND DIFFERENTIATION PROTEINS SYNTHESIS OF HUMAN SKIN FIBROBLASTS DURING REPLICATIVE AGING

E.O. Gutop<sup>1</sup>, N.S. Linkova<sup>1-3</sup>, N.V. Fridman<sup>1</sup>, E.O. Kozhevnikova<sup>1</sup>, V.O. Polyakova<sup>1, 4</sup>, V.Kh. Khavinson<sup>1, 5</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Dynamo pr., 3, Saint Petersburg, 197110, Russian Federation; <sup>2</sup>Academy of postgraduate education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, Volokolamskaya r., 91, Moscow, 125371, Russian Federation; <sup>3</sup>Belgorod National Research University, Pobedy str., 85, Belgorod, 308009, Russian Federation;

<sup>4</sup>Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya str, 2, Saint Petersburg, 194100, Russian Federation; <sup>5</sup>Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarova emb., 6, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Gutop Ekaterina Olegovna — MD, PhD, the scientific researcher of the Laboratory of Biogerontology of the Department of Biogerontology, Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology. Tel.: +7 (916) 254-99-82. E-mail: mgutop@mail.ru ORCID: 0000-0002-1038-7785

Linkova Natalia Sergeevna — doctor of biological sciences, docent, the head of the laboratory of molecular mechanisms of aging of Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology; professor of the Department of therapy, geriatrics and antiaging medicine of Academy of postgraduate education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, senior researcher of the Laboratory "Problem of Aging", Belgorod National Research University. Tel.: +7 (921) 311-42-10. E-mail: miayy@yandex.ru ORCID: 0000-0001-5156-5421

Fridman Natalia Vladimirovna — MD, PhD, scientific research of the laboratory of molecular mechanisms of aging, Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology. Tel.: +7 (921) 918-18-27. E-mail: natfri@mail.ru ORCID: 0000-0001-8929-6829.

Kozhevnikova Ekaterina Olegovna — PhD, the scientific researcher of the Laboratory of Biogerontology of the Department of Biogerontology, Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology. Tel.: +7 (905) 225-54-48. E-mail: katena\_94@list.ru ORCID: 0000-0002-9835-694X

Polyakova Victoria Olegovna — professor of Russian Academy of Science, doctor of biological sciences, professor, the head of the laboratory of immunology of aging of Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology; the head of the center of molecular medicine of Saint Petersburg State Pediatric Medical University. Tel.: +7 (812) 230-00-49. E-mail: vopol@yandex.ru ORCID: 0000-0001-8682-9909

Khavinson Vladimir Khatskelevich — corresponding member of Russian Academy of Science, honored worker of science of Russian Federation, doctor of medical sciences, professor, the head of Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology; the head of the group of peptide regulation of aging of Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. Tel.: +7 (812) 230-00-49. E-mail: khavinson@gerontology.ru ORCID: 0000-0001-7547-7725

Skin fibroblasts aging is caused by genetic features and the environmental factors influence. One of the physiological aspects of skin aging is a decrease of regenerative capacity of dermis fibroblasts, including their ability to differentiate.

The aim of this work is to study the effect of the AED peptide on fibroblast differentiation of human skin when aging in vitro.

Methods. The study was conducted on DF-1 cell line (human dermal fibroblasts (mesenchymal stem cells)) isolated from the skin of the eyelids of a 37-year-old female donor). Cells were cultured till 25 passages for achieving the replicative aging. The effects of the AED peptide on gene expression and protein synthesis of early (Engrailed 1, PDGFRa) and late (Spry4, Twist2) fibroblast differentiation were assessed by polymerase chain reaction and immunocytochemistry.

**Results.** The expression of the ENGRAILED1, PDGFRA, SPRY4, TWIST2 genes decreased by 1,7; 1.6; 1.5; 4.5 times respectively with aging of dermal fibroblasts. The addition of the AED peptide increased the expression of the ENGRAILED1, PDGFRA, SPRY4, TWIST2 genes in «old» skin fibroblasts by 1,9; 2,1; 2,3; 3,4 times, respectively. Expression of Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2 proteins in fibroblasts decreased by 1,9; 2,3; 5,1; 4,3 times respectively with aging. The AED peptide increased the synthesis of Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2 proteins in «old» fibroblasts by 3.3; 2.0; 2.5; 3.9 times respectively.

Conclusion. Thus, the AED peptide increases the functional activity of skin fibroblasts during aging by increasing gene expression and synthesizing differentiation proteins in dermal fibroblast. This geroprotective effect of the AED peptide can accelerate the skin regeneration, stimulate chemotaxis and mitosis of fibroblasts, the synthesis of collagen in them, and activate the remodeling of the extracellular matrix.

Key words: human dermal fibroblasts, AED peptide, differentiation, gene expression, replicative aging

#### **ВВЕДЕНИЕ**

Старение кожи представляет собой сложный биологический процесс, включающий в себя генетические, эпигенетические факторы и влияние окружающей среды [1]. Снижение функций фибробластов дермы во многом обуславливает физиологические механизмы старения кожи. Это связано с тем, что фибробласты представляют собой самую многочисленную субпопуляцию клеток кожи. Фибробласты синтезируют основные компоненты дермальной матрицы: коллаген, эластин, гликозамингликаны [2]. Старение фибробластов кожи обусловлено снижением их способности к дифференцировке. Основными факторами ранней и поздней дифференцировки фибробластов кожи являются белки Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2. Экспрессия гена ранней дифференцировки ENGRAILED-1 в дермальных фибробластах повышается при образовании раны. Активация этого гена является одним из механизмов репарации кожи [3, 4]. Фактор роста тромбоцитов (PDGF) и его рецептор (PDGFR) регулируют раннюю дифференцировку и пролиферацию фибробластов в различных тканях, в том числе в дерме. PDGF и PDGFR способствуют пролиферации, выживанию и миграции клеток мезенхимального происхождения. Установлено, что PDGF стимулирует хемотаксис и митоз, активирует синтез коллагена и ремоделирование внеклеточного матрикса фибробластами кожи [5]. Белок Spry4 экспрессируется в эмбриональных тканях, дерме и является супрессором опухолей. Spry4 ингибирует сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназы МАРК. Дезактивация каскада МАРК – один из ключевых механизмов регуляции дифференцировки и пролиферации фибробластов [6]. Установлено, что необходимым условием дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в фибробласты является активация синтеза Fgf2, стимулирующего синтез белков Spry4, Twist2 и ингибирующего сигнальный путь Erk1/2 [7, 8]. Белки Twist представляют собой высококонсервативные факторы транскрипции, регуляторы эмбриогенеза. Twist2 участвует в дифференцировке различных клеточных линий, в частности, дермальных фибробластов [7]. Twist2 активирует экспрессию генов, кодирующих цитокины и белки внеклеточного матрикса, регулирующие поздние этапы дифференцировки фибробластов кожи [9].

В регуляции экспрессии генов и синтеза белков дифференцировки клеток важную роль играют полипептидные комплексы и ультракороткие пептиды длинной 2-7 аминокислотных остатков [10, 11]. Установлено, что полипептидный комплекс хрящей в совместном применении с ультракороткими пептидами на 38% повышает толщину дермы и на 15% увеличивает толщину эпидермиса у женщин пожилого возраста [12]. В составе полипептидного комплекса хрящей был идентифицирован трипептид AED. Пептид AED обладает теми же биологическими эффектами,

что и полипептидный комплекс хрящей, и регулирует метаболизм соединительной ткани [13]. Пептид AED снижает апоптоз, стимулирует пролиферацию, повышает функциональную активность фибробластов кожи, нормализует гомеостаз внеклеточного матрикса, обладает антиоксидантными и геропротекторными свойствами [14, 15, 16]. Пептид AED модулирует экспрессию геронтогенов при старении мезенхимальных стволовых клеток костного мозга эмбриона человека [17]. Известно, что направление дифференцировки клеток зависит от структуры и концентрации пептидов. Пептиды могут взаимодействовать с ДНК и гистонами, изменяя доступность генов для транскрипции, регулируют метилирование генов [18].

Цель работы — изучить влияние пептида AED на дифференцировку фибробластов кожи человека при старении *in vitro*.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на клетках линии DF-1 (дермальные фибробласты человека (мезенхимные стволовые клетки), выделенные из кожи век 37-летнего донора женского пола) из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки линии DF-1 характеризуются экспрессией на мембране поверхностных антигенов, характерных для мезенхимных стволовых клеток: CD44, CD73, CD90, CD105, HLA-ABC. Данная линия клеток при определенных условиях способна к направленной дифференцировке и имеет ограниченный срок жизни. Фаза активного репликативного старения фибробластов линии DF-1 наступает на 25-м пассаже, что соответствует примерно 50 удвоениям популяции клеток. Клетки культивировали в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1% L-глютамина, 1,5% Hepes-буфера, раствора пенициллина и стрептомицина. При достижении клетками 80% монослоя их пассировали с помощью смеси 0,25% трипсина и 0,2% версена в соотношении 1:3. Концентрация клеток при пассировании составила 50 тыс. клеток на 1 мл среды. Клетки на 6-м («молодые» культуры) и 25-м («старые» культуры) пассажах разделяли на 3 группы:

- 1-я контроль;
- 2-я добавление контрольного пептида GGG, 400 нг/мл;
- 3-я добавление исследуемого пептида AED, 400 нг/мл. Фибробласты культивировали с пептидами в течение 24 ч.

После прохождения 25 пассажей жизнеспособность и пролиферативный потенциал дермальных фибробластов снижался, что было подтверждено результатами MTS-теста. Снижение жизнеспособности клеток отражает их репликативное старение [19].

При исследовании экспрессии генов полную РНК выделяли из фибробластов 3-го и 22-го пассажей с использованием фиксатора для стабили-

зации РНК RNeasy Mini Kit (Qiagen LLC, США). Выделение РНК осуществляли, используя набор RNeasy MiniKit (Qiagen LLC, США) по протоколу, указанному производителем. Первую нить кДНК синтезировали с использованием Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Іпс, США), используя 100 нг РНК на 20 мкл реакционной смеси. Полученную кДНК использовали непосредственно как матрицу для количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) из расчета 1 мкл на 24 мкл реакционной смеси. Конструирование олигонуклеотидных праймеров осуществляли с помощью онлайн-сервиса NCBI Primer-Blast. Использовали пары праймеров, один из которых соответствовал участкам двух соседних экзонов. Экспрессию генов определяли методом ПЦР с регистрацией в режиме реального времени. Количественную ПЦР в присутствии интеркалирующего флуоресцентного красителя SYBR Green I проводили с помощью набора QuantiFast SYBR Green PCR Kit (Qiagen LLC, США) и термоциклеpa CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США). Статистическую обработку результатов осуществляли в автоматическом режиме с помощью программного обеспечения CFX Manager Software. В качестве внутреннего стандарта использовали мРНК GAPDH. Ее концентрацию во всех образцах принимали за единицу.

Для исследования синтеза белков было произведено иммуноцитохимическое окрашивание культур. Для проведения пермеабилизации использовали 0,1% Тритон X-100 («Биолот»), растворенный в фосфатносолевом буфере. Культуры клеток инкубировали в 1% фосфатно-солевом буфере (рН 7,5) в течение 30 мин для блокировки неспецифического связывания. Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 60 мин. В работе использовали первичные моноклональные антитела к Engrailed 1 (1:250, Abcam, США), PDGFRa (1:100, Abcam, США), Spry4 (1:100, Abcam, США), Тwist2 (1:100, Abcam, США). Ядра кле-

ток докрашивали Hoechst 33258 (Sigma), в результате чего они флюоресцировали темно-синим. Красная флуоресценция характеризовала экспрессию исследуемых маркеров (инкубация со вторичными антителами, конъюгированными с флюорохромом Alexa Fluor 647 (1:1000, Abcam), в течение 30 мин при комнатной температуре, в темноте. Исследование проводили на конфокальном микроскопе LSM 710 (Zeiss GmbH, Германия). Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health, США). В каждом случае анализировали 5 полей зрения при ×200. Площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади иммуноокрашенных клеток к общей площади клеток в поле зрения и выражали в %.

Статистическая обработка данных включала подсчет среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала для каждой выборки и проводилась в программе Statistica 6.0. Для анализа вида распределения использовали критерий Шапиро—Уилка. Для проверки статистической однородности нескольких выборок использовали критерий Крускала—Уоллиса. Для попарного сравнения групп применяли t-критерий Стьюдента. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий) принимали равным 0.01.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При репликативном старении дермальных фибробластов наблюдалось снижение экспрессии генов *ENGRAILED1*, *PDGFRA*, *SPRY4*, *TWIST2* соответственно в 1,7; 1,6; 1,5; 4,5 раза (табл. 1). Добавление пептида AED в 1,5 раза повышало экспрессию гена ранней дифференцировки фибробластов *ENGRAILED1* и в 1,3 раза увеличивало экспрессию гена поздней дифференцировки фибробластов *SPRY4* в «молодых» клетках. Контрольный пептид GGG снижал экспрессию гена ранней дифференцировки фибробластов *PDGFRA* в «молодых» фибробластах кожи в 1,9 раза по сравнению с контролем.

Таблица 1

Влияние пептида AED на экспрессию генов дифференцировки дермальных фибробластов при репликативном старении

Table 1

The influence of AED peptide on dermal fibroblasts differentiation genes expression during replicative aging

	Экспрессия мРНК, усл. ед.					
Ген	«молодые» культуры			«старые» культуры		
	контроль	пептид GGG	пептид AED	контроль	пептид GGG	пептид AED
ENGRAILED1	$1,15\pm0,17$	$1,01\pm0,09$	1,79±0,22*	0,67±0,09*	$0,70\pm0,05$	1,24±0,11**
PDGFRA	2,09±0,19	1,12±0,15*	1,88±0,24	1,29±0,18*	$0,97\pm0,17$	2,67±0,31**
SPRY4	$1,33\pm0,17$	$1,40\pm0,20$	$1,78\pm0,10*$	0,87±0,11*	$0,71\pm0,13$	1,98±0,17**
TWIST2	2,56±0,23	2,11±0,24	2,35±0,16	0,57±0,04*	0,70±0,11	1,94±0,16**

**Примечание.** \* - p<0,01 по сравнению с контролем в «молодых» культурах; \*\* - p<0,01 по сравнению с контролем в «старых» культурах. **Note.** \* - p<0.01 in comparison with the control in «young» cultures; \*\* - p<0.01 in comparison with the control in «old» cultures.

В «старых» культурах добавление пептида AED увеличивало экспрессию генов *ENGRAILED1*, *PDGFRA*, *SPRY4*, *TWIST2* соответственно в 1,9; 2,1; 2,3; 3,4 раза по сравнению с этими показателями в контроле (табл. 1). После добавления пептида AED к фибробластам кожи, находящимся в состоянии репликативного старения, экспрессия генов дифференцировки была сопоставима со значениями, характерными для «молодых» клеток. Контрольный пептид GGG не влиял на экспрессию генов дифференцировки дермальных фибробластов при репликативном старении.

Далее было исследовано влияние пептида AED на синтез белков дифференцировки дермальных фибробластов при старении *in vitro*. Установлено, что при репликативном старении происходит уменьшение площади экспрессии белков Engrailed 1, PDGFRa, Spry4, Twist2 в дермальных фибробластах соответственно в 1,9; 2,3; 5,1; 4,3 раза (табл. 2). Пептид АЕД повышал экспрессию белков Engrailed 1 и Twist2 в «молодых» фибробластах кожи соответственно в 1,7 и 1,3 раза. При добавлении пептида AED в «молодые» культуры фибробластов дермы площадь экспрессии белков PDGFRa и Spry4 достоверно не изменялась. Контрольный пептид GGG не влиял экспрессию белков дифференцировки в «молодых» и «старых» культурах. Пептид AED повышал площадь экспрессии белков дифференцировки дермальных фибробластов в «старых» культуры фибробластов. Под действием пептида AED экспрессия белка Engrailed 1 увеличилась в 3,3 раза, белка PDGFRα – в 2,0 раза, Spry4 – в 2,5 раза, белка Twist2 – в 3,9 раза по сравнению с этими показателями в контрольных «старых» культурах (табл.

Обсуждение. В настоящее время молекулярноклеточный механизм действия большинства ультракоротких пептидов, регулирующих функции клеток кожи, не достаточно изучен. Пептиды имеют маленький размер, благодаря чему могут проникать через роговой слой кожи. Эти вещества участвуют в естественных метаболических реакциях дермальных фибробластов, что указывает на перспективность их исследований в геронтологии и дерматологии [20]. Одним из пептидов, регулирующих функции клеток кожи при старении, является AED.

Пептид AED повышает экспрессию генов (ENGRAILED1, PDGFRA, SPRY4, TWIST2) и синтез белков дифференцировки (Engrailed 1, PDGFRα, Spry4, Twist2) в «молодых» и «старых» фибробластах кожи человека. Следует отметить, что под действием пептида AED уровень экспрессии генов и синтеза белков дифференцировки в «старых» дермальных фибробластах достигает значений, характерных для «молодых» клеток. При этом в «старых» культурах эффект пептида AED более выражен, чем в «молодых» фибробластах. Эти данные указывают на геропротекторное действие трипептида и согласуются с результатами ранее проведенных исследований [14, 15].

Ранее было установлено, что пептид AED стимулирует синтез гистоновых деацетилаз Sirt-1, Sirt-6 в фибробластах кожи человека при репликативном старении [15]. Методами физикохимии и молекулярного моделирования выявлено, что ультракороткие пептиды могут комплементарно связываться с определенными последовательностями двунитевой ДНК. Это связывание в промоторной области генов приводит к регуляции их экспрессии и синтеза соответствующих белков [21]. Предполагается, что пептид AED может комплементарно связываться с последовательностью ДНК CGGG в промоторе гена SIRT1 5'cgggtcacgtgatggggtttaaatctcccgcagccggagccgc gggggcgccagtgccgc 3' (Eukaryotic Promoter Database). Sirt-1 регулирует функции фактора транскрипции SOX2, который участвует в активации и репрограммировании плюрипотентных стволовых клеток через сигнальный путь miR-34a-SIRT1-p53. Sirt-6 участвует в репрограммировании фибробластов кожи через регуляцию активности miR-766. Это способствует активации генов дифференцировки дермаль-

Таблица 2

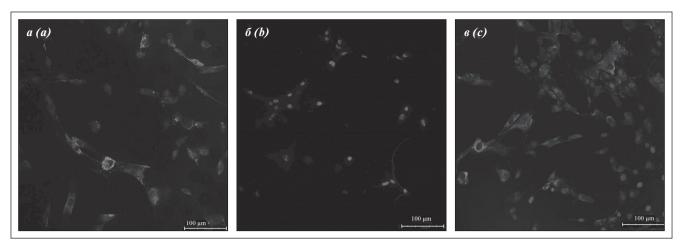
## Влияние пептида AED на синтез белков дифференцировки дермальных фибробластов при репликативном старении

Table 2

The influence of AED peptide on dermal fibroblasts differentiation protein sythesis during replicative aging	
The influence of AED bedrife on definal inflodiasts differentiation protein sythesis during reducative aging	

	Площадь экспрессии, %					
Белок	«молодые» культуры			«старые» культуры		
	контроль	пептид GGG	пептид AED	контроль	пептид GGG	пептид AED
Engrailed 1	$0,78\pm0,12$	$0,70\pm0,10$	1,34±0,11*	0,42±0,05*	$0,35\pm0,05$	1,40±0,17**
PDGFRα	1,22±0,20	0,96±0,13	1,19±0,15	0,52±0,06*	$0,60\pm0,07$	1,03±0,11**
Spry4	$1,79\pm0,18$	$1,90\pm0,21$	$1,76\pm0,16$	$0,35\pm0,04*$	$0,41\pm0,05$	$0.83\pm0.07**$
Twist2	1,90±0,23	1,73±0,16	2,50±0,21*	0,44±0,04*	0,55±0,13	1,72±0,19**

*Примечание.* \* - p<0,01 по сравнению с контролем в «молодых» культурах; \*\* - p<0,01 по сравнению с контролем в «старых» культурах *Note.* \* - p<0.01 in comparison with the control in «young» cultures; \*\* - p<0.01 in comparison with the control in «old» cultures



**Рис. 1.** Экспрессия Twist2 в цитоплазме фибробластов кожи при репликативном старении. Иммунофлуоресцентная микроскопия,  $\times 200$ . Экспрессия Twist2 — красная флуоресценция, Alexa Fluor 567. Ядра докрашены Hoechst 33258, синяя флуоресценция. А — контроль, «молодая» культура; Б — контроль «старая» культура»; В — пептид AED, «старая» культура»

**Fig. 1.** Twist2 expression in the cytoplasm of skin fibroblasts during replicative aging. Immunofluorescent microscopy,  $\times 200$ . Twist2 expression — red fluorescence, Alexa Fluor 567. Nucleus marked by Hoechst 33258, blue fluorescence. A — control, «young» culture; B — control «old» culture; C — AED peptide, «old» culture

ных фибробластов Sox2, Oct4, Nanog путем ацетилирования гистона H3 по лизину в 56-м положении [22]. Влияние пептида AED на дифференцировку фибробластов кожи может достигаться через регуляцию экспрессии генов и синтеза белков семейства сиртуинов.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, пептид AED повышает функциональную активность фибробластов кожи при старении путем повышения экспрессии генов и синтеза белков дифференцировки дермальных фибробластов. Этот геропротекторный эффект пептида AED может способствовать ускорению регенерации кожи, стимуляции хемотаксиса и митоза фибробластов, синтезу в них коллагена, активации ремоделирования внеклеточного матрикса.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zouboulis C.C., Ganceviciene R., Liakou A.I., Theodoridis A., Elewa R., Makrantonaki E. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. Clin. Dermatol. 2019; 37 (4): 365–72. https://doi. org/10.1016/j.clindermatol.2019.04.002.
- 2. Woodley D.T. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing. Dermatologic clinics. 2017; 35 (1): 95–100. https://doi. org/10.1016/j.det.2016.07.004.
- Mascharak S., des Jardins-Park H.E., Davitt M.F., Griffin M., Borrelli M.R., Moore A.L., Chen K., Duoto B., Chinta M., Foster D.S., Shen A.H., Januszyk M., Kwon S.H., Wernig G., Wan D.C., Lorenz H.P., Gurtner G.C., Longaker M.T. Preventing Engrailed-1 activation in fibroblasts yields wound regeneration without scarring. Science. 2021; 372 (6540): eaba2374. https://doi.org/10.1126/science.aba2374.
- Rinkevich Y., Walmsley G.G., Hu M.S., Maan Z.N., Newman A.M., Drukker M., Januszyk M., Krampitz G.W., Gurtner G.C., Lorenz H.P., Weissman I.L., Longaker M.T. Identification and isolation of a dermal lineage with intrinsic fibrogenic potential. Science.

- 2015; 348 (6232): aaa2151. https://doi. org/10.1126/science.aaa2151.
- Marques L.F., Stessuk T., Camargo I.C., Sabeh Junior N., dos Santos L., Ribeiro-Paes J.T. Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. Platelets. 2015; 26 (2): 101–13. https://doi.or a/10.3109/09537104.2014.881991.
- Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Аюшинова Н.И. Воздействие на митогенактивируемые протеинкиназы как новое направление регуляции роста соединительной ткани. Бюллетень сибирской медицины. 2017; 16 (4): 86–93. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-86-93
  - (Shurygina I.A., Shurygin M.G., Zelenin N.V., Ayushinova N.I. Influence on mitogen-activated protein kinases as a new direction of connective tissue growth regulation. Bulletin of Siberian Medicine. 2017; 16 (4): 86–93. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-86-93 (In Russian)).
- Lee M.S., Lowe G., Flanagan S., Kuchler K., Glackin C.A. Human Dermo-1 has attributes similar to Twist in early bone development. Bone. 2000; 27: 591–602. https://doi.

- org/10.1016/s8756-3282(00)00380-x.
- 8. Lai W.T., Krishnappa V., Phinney D.G. Fibroblast growth factor 2 (Fgf2) inhibits differentiation of mesenchymal stem cells by inducing Twist2 and Spry4, blocking extracellular regulated kinase activation, and altering Fgf receptor expression levels. Stem Cells. 2011; 29 (7): 1102–11. https:// doi.org/10.1002/stem.661.
- Crespo N.E., Torres-Bracero A., Renta J.Y., Desnick R.J., Cadilla C.L. Expression profiling identifies twist2 target genes in setleis syndrome patient fibroblast and lymphoblast cells. Int. J. Environ Res. Public Health. 2021; 18 (4): 1997. https://doi.org/10.3390/ iierph18041997.
- 10. Hoffknecht B.C., Worm D.J., Bobersky S., Prochnow P., Bandow J.E., Metzler-Nolte N. Influence of the Multivalency of Ultrashort Arg-Trp-Based Antimicrobial Peptides (AMP) on Their Antibacterial Activity. Chem. Med. Chem. 2015; 10 (9): 1564–9. doi: 10.1002/cmdc.201500220.
- 11. Ni M., Tresset G., Iliescu C., Hauser C.A.E. Ultrashort Peptide Theranostic Nanoparticles by Microfluidic-Assisted Rapid Solvent Exchange. IEEE Trans Nanobioscience. 2020;

- 19 (4): 627–32. https://doi.org/10.1109/TNB.2020.3007103.
- 12. Фридман Н.В., Линькова Н.С., Бойко Л.В., Кахели М.А. Влияние пептидных биорегуляторов на структурнофункциональные особенности кожи лица женщин пожилого возраста. Молекулярная медицина. 2021; 4: 42-6. https://doi.org/10.29296/24999490-2021-04-07. (Fridman N.V., Linkova N.S., Boiko I.V.
  - (Fridman N.V., Linkova N.S., Bojko L.V., Kacheli M.A. The influence of peptide bioregulators on the structural and functional specific of face skin in elderly women. Moleculyarnaya meditcina. 2021; 4: 42–6. https://doi.org/10.29296/24999490-2021-04-07 (In Russian)).
- 13. Журкович И.К., Ковров Н.Г., Рыжак Г.А., Миронова Е.С., Хавинсон В.Х. Идентификация коротких пептидов в составе полипептидных комплексов, выделенных из органов животных. Успехи современной биологии. 2020; 140 (2): 140-8. https://doi.org/10.31857/S004213242002012X (Zhurkovich I.K., Kovrov N.G., Ryzhak G.A., Mironova E.S., Khavinson V.Kh. Identification of Short Peptides as Part of Polypeptide Complexes Isolated from Animal Organs. Biology Bulletin Reviews. 2020; 140 (2): 140-8. https://doi.org/10.31857/S004213242002012X (In Russian)).
- 14. Линькова Н.С., Дробинцева А.О., Орлова О.А., Кузнецова Е.П., Полякова В.О., Кветной И.М., Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция функций фибробластов кожи при их старении іп vitro. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2016; 161 (1): 40–4. https://doi.org/10.1007/s10517-016-3370-х. (Linkova N.S., Drobintseva A.O., Orlova

- O.A., Kuznetsova E.P., Polyakova V.O., Kvetnoy I.M., Khavinson V.Kh. Peptide Regulation of Skin Fibroblast Functions during Their Aging In Vitro. Bull. Exp. Biol. Med. 2016; 161 (1): 40–4. https://doi.org/10.1007/ s10517-016-3370-x (In Russian)).
- 15. Фридман Н.В., Линькова Н.С., Кожевникова Е.О., Гутоп Е.О., Хавинсон В.Х. Сравнительное влияние пептидов КЕ и АЕD на функциональную активность фибробластов кожи человека при их репликативном старении. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2020; 3: 197–201. https://doi.org/10.1007/s10517-020-05022-1.
- (Fridman N.V., Linkova N.S., Kozhevnikova E.O., Gutop E.O., Khavinson V.K. Comparison of the Effects of KE and AED Peptides on Functional Activity of Human Skin Fibroblasts during Their Replicative Aging, Bull. Exp. Biol. Med. 2020; 3: 197–201. https://doi.org/10.1007/s10517-020-05022-1 (In Russian)).
- 16. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Дятлова А.С., Гутоп Е.О., Орлова О.А. Короткие пептиды: регуляция функций кожи при старении. Успехи геронтологии. 2020; 33 (1): 46–54. (Khavinson V.K., Linkova N.S., Diatlova A.S., Gutop E.O., Orlova O.A. (2020) Short peptides: regulation of skin function during aging. Adv. Gerontol. 2020; 33 (1): 46–54 (In Russian)).
- 17. Ashapkin V., Khavinson V., Shilovsky G., Linkova N., Vanuyshin B. Gene expression in human mesenchymal stem cell aging cultures: modulation by short peptides. Molecular Biology Reports. 2020; 47: 4323–9. https://doi.org/10.1007/s11033-020-05506-3.
- 18. Khavinson V., Linkova N., Diatlova A., Trofi-

- mova S. Peptide Regulation of Cell Differentiation. Stem Cell Reviews and Reports. 2020; 16: 118–25. https://doi.org/10.1007/s12015-019-09938-8.
- 19. Хохлов А.Н., Клебанов А.А., Кармушаков А.Ф., Шиловский Г.А., Насонов М.М., Моргунова Г.В. Тестирование геропротекторов в экспериментах на клеточных культурах: выбор оптимальной модельной системы. Вестник Московского университета. Серия 16: биология. 2014; 1: 13–8. (Khokhlov A.N., Klebanov A.A., Karmushakov A.F., Shulovsky G.A., Nasonov M.M., Morgunova G.V. Testing of anti-aging drugs in experiments on cell cultures: choosing the correct model system. Vestnik of Moscow University, Series 16: biology. 2014; 1: 13–8 (In Russian)).
- 20. Орасмяэ-Медер Т., Эрнандес Е. Пептидные технологии в косметике: тенденции и перспективы. Косметика & медицина. 2010; 2: 46–53. (Orasmaje-Meder T., Ernandes E. Peptide technology in cosmetics: tendency and perspectives. Cosmetics and medicine. 2010; 2: 46–53 (In Russian)).
- Kolchina N., Khavinson V., Linkova N., Yakimov A., Baitin D., Afanasyeva A., Petukhov M. Systematic search for structural motifs of peptide binding to double-stranded DNA. Nucleic Acids Research. 2019; 47 (20): 10553–63. https://doi.org/10.1093/nar/gkz850.
- 22. Hsu Y.C., Wu Y.T., Tsai C.L., Wei Y.H. Current understanding and future perspectives of the roles of sirtuins in the reprogramming and differentiation of pluripotent stem cells. Exp. Biol. Med. (Maywood). 2018; 243 (6): 563–75. https://doi.org/10.1177/1535370218759636.

#### Поступила 21 декабря 2021 г.

Для цитирования: Гутоп Е.О., Линькова Н.С., Фридман Н.В., Кожевникова Е.О., Полякова В.О., Хавинсон В.Х. Пептид AED активирует экспрессию генов и синтез белков дифференцировки фибробластов кожи человека при репликативном старении. Молекулярная медицина. 2022; 20 (2): 32–38. https://doi. org/10.29296/24999490-2022-02-05 **For citation:** Gutop E.O., Linkova N.S., Fridman N.V., Kozhevnikova E.O., Polyakova V.O., Khavinson V.Kh. AED peptide activates gene expression and differentiation proteins synthesis of human skin fibroblasts during replicative aging. Molekulyarnaya meditsina. 2022; 20 (2): 32–38 (in Russian). https://doi.org/10.29296/24999490-2022-02-05

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ 2022 МЕДИЦИНА

T.20 MOLEKULYARNAYA MEDITSINA

www.molmedjournal.ru www.rusvrach.ru

#### МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА (Molekulyarnaya Meditsina)

Научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

Основан в 2003 г. Выходит 6 раз в год

## Том 20, №2, 2022

0Б30Р		
Морозова О.В., Оспельникова Т.П.		
Цитокины при аллергических заболевания	x	
Фадеева М.В., Схиртладзе М.Р., Зольникова	а О.Ю., Ивашкин В.Т.	
Микробиота кишечника в патогенезе хронь	ической сердечной недо	остаточности
Вишневский Б.И.		
Компенсаторные мутации как механизм со	хранения вирулентност	И
и жизнеспособности лекарственно-устойчи	ивых форм Mycobacteri	um tuberculosis 19
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		
Кушлинский Н.Е., Бабкина И.В., Герштейн Е.С	С., Любимова Н.В., Тимог	bеев Ю.С.,
Короткова Е.А., Зубрихина Г.Н., Давыдова Т		•
Растворимые формы рецептора программ		
и лиганда sPD-L1, а также некоторые биох	имические	
и гематологические показатели в крови пе	реболевших COVID-19.	26
Гутоп Е.О., Линькова Н.С., Фридман Н.В., Кох	кевникова Е.О., Поляков	а В.О., Хавинсон В.Х.
Пептид AED активирует экспрессию генов	и синтез белков диффе	ренцировки
фибробластов кожи человека при реплика	тивном старении	
Короткова Н.В., Калинин Р.Е., Сучков И.А., Ни	икифорова Л.В., Рябков	A.H.
Изучение содержания Р, Е – селектинов и	гликопротеинового лиг	анда PSGL-1
у пациентов с атеросклерозом артерий них	кних конечностей	
Баринов Э.Ф., Малинин Ю.Ю., Григорян Х.В.		
Пуринергическая регуляция элиминации к	онкрементов из верхнеі	го отдела
мочеточника при литокинетической терапи	и	46
Лебедева Е.И., Щастный А.Т., Бабенко А.С.		
Взаимное снижение уровня мРНК ANG и ${\sf V}$	EGF при прогрессирую।	цем ангиогенезе
венозной системы печени крыс Wistar в эк	спериментальном цирр	03e 53
Журнал представлен в международной реф Входит в состав базы Russian Science Citatiв Включен в перечень ВАК: 03.01.00 — физико-хим 03.03.00 — физико-тия, 14.03.00 — медико-биол Журнал включен в Российский индекс научного	on Index (RSCI) на платф ическая биология, 1огические науки.	al Abstracts. opme Web of Science.
Журнал зарегистрирован Федеральной службой и массовых коммуникаций. Свидетельство о рег Редакция не имеет возможности возвращать ру За содержание рекламных материалов редакция Тираж 200 экз.	истрации ПИ №ФС77-5006 кописи	64 от 04.06.12
Выпускающий редактор Е.А. Козловская		дакции и издателя:
Корректор Л.В. Чучвера Верстка Р.Р. Саргсян		п. Маршала Кожедуба, д. 14
Выход в свет 07.04.2022	E-mail: E-mail:	ks.med@mail.ru verstka@rusvrach.ru
Формат 60×90/8 Заказ №1511-4-22	Отдел подписки:	8-499-959-63-18
Заказ №1511-4-22 Цена свободная	Web-site:	www.molmedjournal.ru www.rusvrach.ru
Отпечатано в ООО «МДМпринт»,	Полписной	www.rusvracii.ru индекс по каталогу
115280, Москва, ул. Автозаводская, д. 25, 4-й эт., помещение XXXIII, ком. 6	1	іе Издания» П7982

Главный редактор М.А. Пальцев					
академик РАН, Москва, Россия					
Релкоппег	ия журнала				
ответственный секр					
О.Ю. Зольникова	Д.М.Н.,				
	Москва, Россия				
К.В. Анохин	академик РАН, Москва, Россия				
А.В. Васильев	члкорр. РАН, Москва, Россия				
О.А. Голубничая	профессор,				
А.И. Григорьев	Бонн, Германия академик РАН,				
А.Д. Дурнев	Москва, Россия члкорр. РАН, Москва, Россия				
А.В. Караулов	академик РАН,				
И.М. Кветной	Москва, Россия д.м.н., профессор,				
M.M. KDGTHUM	СПетербург, Россия				
В.И. Киселев	члкорр. РАН,				
Л.С. Коков	Москва, Россия академик РАН,				
JI.O. NOROD	Москва, Россия				
Н.Е. Кушлинский	академик РАН,				
С.В. Нетесов	Москва, Россия				
C.D. HETEGUS	члкорр. РАН, Новосибирск, Россия				
Е.М. Пальцева	д.м.н., профессор РАН				
В.О. Полякова	Москва, Россия д.б.н.,				
D.G. HOMMODA	профессор РАН,				
D.O. II	СПетербург, Россия				
В.О. Попов	академик РАН, Москва, Россия				
Д.Ф. Свааб	профессор,				
	Амстердам,				
П.А. С	Нидерланды				
Д.А. Сычев	члкорр. РАН, Москва, Россия				
ЖП. Тиммерман					
А.А. Тотолян	Антверпен, Бельгия				
A.A. IUIUJIH	академик РАН, СПетербург, Россия				
Ропакцио	нный совет				
А.И. Арчаков	академик РАН,				
·	Москва, Россия				
В.В. Бенберин	д.м.н., профессор, Астана, Казахстан				
В.А. Быков	академик РАН,				
А.Н. Коновалов	Москва, Россия академик РАН,				
В.П. Скулачев	Москва, Россия				
в.н. скулачев	академик РАН, Москва, Россия				
В.Н. Смирнов	академик РАН,				
В.А. Ткачук	Москва, Россия академик РАН,				
Р.М. Хаитов	Москва, Россия академик РАН,				
	Москва, Россия				
Н.А. Яицкий	академик РАН, СПетербург, Россия				

#### **MOLECULAR MEDICINE**

Scientific iournal

Founded in 2003 year Published 6 times a year

#### CONTENT

### Volume 20, Nº2, 2022

REVIEWS
Morozova O.V., Ospelnikova T.P. Cytokines for allergic diseases
Fadeeva M.V., Skhirtladze M.R., Zolnikova O.Yu., Ivashkin V.T.
Intestinal microbiota in the pathogenesis of chronic heart failure
Vishnevskiy B.I.
Compensatory mutations as a mechanism for preserving virulence
and viability of drug-resistant forms of Mycobacterium tuberculosis
ORIGINAL INVESTIGTIONS
Kushlinskii N.E., Babkina I.V., Gerstein E.S., Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S.,
Korotkova E.A., Zubrikhina G.N., Davydova T.V., Somonova O.V., Stilidi I.S.
Soluble forms of programmable cell death receptor sPD-L and ligand sPD-L1,
as well as some biochemical and hematological indicators
in the blood of COVID-19 diseased
Gutop E.O., Linkova N.S., Fridman N.V., Kozhevnikova E.O., Polyakova V.O., Khavinson V.Kh.
AED peptide activates gene expression and differentiation proteins synthesis
of human skin fibroblasts during replicative aging
Korotkova N.V., Kalinin R.E., Suchkov I.A., Nikiforova L.V., Ryabkov A.N.
Studying of P, E – selectins and glycoprotein ligand PSGL-1 level in blood serum
of patients with atherosclerosis of the arteries of lower limb
Barinov E.F., Malinin Y.Yu., Grigoryan Kh.V.
Purinergic regulation of stones elimination from the upper part
of the ureter during lithokinetic therapy
Lebedeva E.I., Shchastny A.T., Babenko A.S.
Decrease in ANG and VEGF mRNA levels during progressive angiogenesis
of the liver venous system of Wistar rats in experimental cirrhosis
Presented in the International Natabase Chemical Abstracts. It is included in the database

Presented in the International Database Chemical Abstracts. It is included in the database of the Russian Science Citation Index (RSCI) on the platform of Web of Science.

Included in the list of VAK journals: 03.01.00 — physico-chemical biology,
03.03.00 — physiology, 14.03.00 — medical and biological sciences.

The journal is included in the Russian Science Citation Index.

The journal was registered by the Press Committee of the Russian Federation under №ФC77-50064 on June 04, 2012. Reproduction of materials elsewhere or duplication of the materials published in the journal, in whole or in part, is not permitted without the written consent of the Russkiy Vrach (Russian Physician) Publishing House. The editors have no opportunity of returning manuscripts. The editors provide no warrantyas to the contents of advertisements

Production editor E.A. Kozlovskaya Proof-reader L.V. Chuchvera Maker-up R.R. Sargsyan Signed for publication 07.04.2022 Format 60×90/8

Order №1511-4-22
Printed at the «MDMprint» printing-house:

Printed at the «MDMprint» printing-house 25, Avtozavodskaya st., XXXIII, off. 6 Moscow, 115280

## Address of the editorial office and publisher 14, Marshal Kozhedub St., Moscow109559

E-mail: ks.med@mail.ru
E-mail: verstka@rusvrach.ru
Subscription department: 8-499-959-63-18
Web-site: www.rusvrach.ru
www.rusvrach.ru

«Podpisniye Izdaniya» catalogue subscription index **17982** 

#### Publishing House «Russkiy Vrach» General Director G.S. Zolnikova

Editor-in-Chief M.A. Paltsev						
PhD, MD, Acad. RAS, Moscow, Russia						
Editorial board						
Executive secretary						
Oksana Yu. Zolnikova PhD, MD.Sci., Moscow, Russia PhD, MD. PhD, MD. And MD. And MD.						
Konstantin V. Anokhin PhD, MD, Acad. RAŞ,						
Andrei V. Vasilev Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Corr. Memb. of RAS.						
Moscow, Russia Olga A. Golubnitschaja PhD, MD, Prof.,						
Anatolii I. Grigorev PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Andrei D. Durnev PhD, D.Sci. (Biol), Corr. Memb. of RAS.						
Alexandr V. Karaulov Moscow, Russia PhD, MD.Sci., Acad. RAS, Moscow, Russia						
I INDICIVI KVEIDOV POD IVID PROL						
Vsevolod I. Kiselev Saint-Petersburg, Russia PhD, D.Sci. (Biol),						
Corr. Memb. of RAS,						
Moscow, Russia Leonid S. Kokov PhD, MD,Corr.						
Acad. RAS, Moscow, Russia						
Nikolai E. Kushlinskii Moscow, Russia PhD, MD, Acad. RAS,						
Moscow, Russia						
Sergei V. Netesov PhD, D.Sci. (Biol), Corr. Memb. of RAS,						
Corr. Memb. of RAS, Novosibirsk, Russia Ekaterina M. Paltseva PhD, MD, Prof RAS						
Moscow, Russia Viktoriya O. Polyakova PhD, D.Sci. (Biol), Prof. RAS,						
Vladimir O. Popov Saint-Petersburg, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Dmitrii A. Sychev Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Corr. Memb. of RAS,						
Dick F. Swaab Moscow, Russia PhD, MD, Prof., Amsterdam,						
Jean-Pierre Timmermans the Netherlands PhD, Prof.,						
Antwerpen, Belgium Areg A. Totolyan PhD, D.Sci.(Med),						
Acad. RAS, Saint-Petersburg, Russia						
Editorial committee						
Alexander I. Archakov PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Acad. RAS, Moscow, Russia Vladimir V. Benberin PhD, D.Sci. (Med),						
Valerii A. Bykov  Prof., Astana, Kazakhstan PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Alexander N. Konovalov PhD, D.Sci. (Med), Acad. RAS,						
Vladimir P. Skulachev  Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS.						
Vladimir N. Smirnov Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Vsevolod A. Tkachuk  Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Biol), Acad. RAS,						
Rakhim M. Khaitov Moscow, Russia PhD, D.Sci. (Med), Acad. RAS,						
Moscow, Russia Nikolai A. Yaitsky PhD, D.Sci. (Med), Acad. RAS, Saint-Petersburg. Russia						

Saint-Petersburg, Russia