

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР NRF2 – МИШЕНЬ АКТИВИРУЮЩИХ АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ КЛЕТКИ ПРЕПАРАТОВ: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ВОЗРАСТНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Цель представленного обзора состоит в обосновании использования активаторов NRF2 в качестве основы при разработке препаратов для терапии широкого круга заболеваний и патологических состояний (инфекционные, наследственные, ассоциированные со старением) и возможных перспектив применения в качестве потенциальных терапевтических средств известных агентов, активирующих систему NRF2.

Ключевые слова: NRF2, окислительный стресс, антиоксиданты, возрастные изменения, неврологические расстройства, нейродегенеративные заболевания

Для цитирования: Шиловский Г.А., Сорокина Е.В., Орловский И.В. Транскрипционный фактор NRF2 – мишень активирующих антиоксидантную систему клетки препаратов: перспективы применения при возрастных заболеваниях. *Клиническая геронтология*. 2021; 27 (11-12): 57-62. <https://doi.org/10.26347/1607-2499202111-12057-062>.

TRANSCRIPTION FACTOR NRF2 – A TARGET OF POTENTIAL ANTIOXIDANT DRUGS: PROSPECTS IN TREATMENT OF AGE-RELATED DISEASES

Therapeutic influences aimed at compensating for increased concentration of reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress can be mediated by the transcription factor NRF2 (the pathway of the endogenous antioxidant response), which protects cells from oxidative stress by increasing the expression of cytoprotective enzymes. NRF2 might be activated by several substances, both natural and synthetic. Pharmacological interventions that correct age-related changes and pathologies are aimed at the pathogenesis of numerous neurodegenerative conditions. In addition to regulating the expression of antioxidant genes that counteract the prooxidative state and proteotoxicity, which contributes to an increase in the antioxidant defense of the cell, NRF2 also has an anti-inflammatory effect decreasing inflammatory markers. The potential of NRF2 activators as therapeutic agents has been shown. Therapy with NRF2-activating compounds improves the prognosis in patients with neurodegenerative conditions.

Keywords: NRF2, oxidative stress, antioxidants, age-related changes, neurological disorders, neurodegenerative diseases

For citation: Shilovsky GA, Sorokina EV, Orlovsky IV. Transcription factor NRF2 – a target of potential antioxidant drugs: prospects in treatment of age-related diseases. *Clin Gerontol*. 2021; 27 (11-12): 57-62. <https://doi.org/10.26347/1607-2499202111-12057-062>.

ВВЕДЕНИЕ

Терапевтические воздействия, направленные на компенсацию повышения уровня активных форм кислорода (АФК) и окислительный стресс, могут быть опосредованы фактором транскрипции NRF2 (путь эндогенного антиоксидантного ответа), защищающим клетки за счет увеличения

экспрессии цитопротективных ферментов. NRF2 может активироваться рядом веществ как природных, так и синтетических. Кроме регуляции экспрессии антиоксидантных генов, противодействующих проокислительному состоянию и протеотоксичности, что способствует увеличению антиоксидантной защиты клетки, NRF2 оказывает также противовоспалительное действие,

Г.А. Шиловский¹,
Е.В. Сорокина¹,
И.В. Орловский²

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Российская Федерация

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва, Российская Федерация

Gregory Shilovsky¹,
Elena Sorokina¹,
Igor Orlovsky²

¹ Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

приводящее к снижению маркеров воспаления. Таким образом, активация фактора транскрипции NRF2 увеличивает продолжительность здоровой жизни и подавляет развитие патологий. Терапия NRF2-активирующими соединениями улучшает прогноз у пациентов с нейродегенеративными состояниями.

Антиоксидантная роль NRF2

Антиоксидантные системы способствуют замедлению старения и увеличению продолжительности жизни, но при старении активность работы систем в базальных условиях, а также их способность реагировать на повреждения обычно снижается. Фактор транскрипции NRF2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) регулирует транскрипцию антиоксидантных и детоксицирующих ферментов, которые представляют собой мощную защитную систему клетки [1]. NRF2 является основным регулятором клеточного гомеостаза, который контролирует экспрессию более 1% генов человека, связанных с реакциями биотрансформации, редокс-гомеостазом, энергетическим метаболизмом, репарацией ДНК и протеостазом [2]. NRF2 активируется окислительными стрессорами и электрофильными агентами, обеспечивая адаптацию к стрессу путем положительной регуляции клеточной антиоксидантной защиты и других метаболических процессов и контролируя при различных видах стресса экспрессию более 200 генов, таких, например, как гены гемоксигеназы-1 (HMOX1), глутатион-S-трансферазы (GST), супероксиддисмутаза (SOD), каталазы (CAT), NAD(P)H: хинон оксидоредуктаза 1 (NQO1). Белки, экспрессирующиеся NRF2-зависимыми генами, регулируют множество защитных функций, в том числе – детоксикацию лекарств, пентозофосфатный шунт и аутофагию [2].

Противовоспалительная роль NRF2

Противовоспалительные действия NRF2 считаются вторичными по отношению к его антиоксидантным эффектам. Например, классический «провоспалительный» транскрипционный фактор NFκB активируется окислительным стрессом, который может блокироваться NRF2-зависимой индукцией антиоксидантных генов-мишеней, таким образом, транскрипция про-

воспалительных цитокинов снижается. Однако NRF2 непосредственно регулирует экспрессию противовоспалительных медиаторов, таких как интерлейкин IL-17D, и киназы рецепторов, связанных с G-белком. Более того, NRF2 способствует снижению экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухолей TNF-α, IL-6, IL-8 и IL-1β в микроглии, макрофагах, моноцитах и астроцитах [3].

NRF2 и склероз

Склероз – хроническое воспалительное нейродегенеративное заболевание. Признаками сопутствующего ему аутоиммунного ответа являются демиелинизация, астроцитоз, аксональная дегенерация и склеротические бляшки [4].

Многочисленные сообщения предполагают роль NRF2 в патогенезе рецидивирующе-ремиттирующего рассеянного склероза (РС). Показано, что «утрата» NRF2 приводит к ускоренному началу и более тяжелому клиническому течению болезни, сопровождающейся повышенной глияльной активацией, расширенным повреждением спинного мозга и дегенерацией аксонов, а также повышением уровня провоспалительных цитокинов [5]. В то же время целый ряд NRF2-активирующих соединений продемонстрировал положительные эффекты в модельных системах РС [5].

Диметилфумарат (ДМФ, Tecfidera или BG-12) лицензирован в качестве пероральной терапии при РС [6]. Лечение ДМФ оценивали в фазах I и II, и показали, что у пациентов, получавших ДМФ, частота рецидивов в годовом исчислении была ниже по сравнению с пациентами, получавшими плацебо [7].

NRF2 и болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенная форма деменции. Двумя патологическими признаками БА являются внутриклеточные нейрофибриллярные клубки, состоящие из тау-белка и внеклеточных β-амилоидных (Aβ) бляшек. При БА экспрессия NRF2 снижается, что доказано мета-анализом наборов данных микрочипов, выявившем 31 негативно регулируемый ген системы антиоксидантной защиты у пациентов с БА [8]. В моделях БА у трансгенных мышей потеря NRF2, как было показано, увели-

чивает уровни β -амилоидов и фосфорилированного тау-белка, вызывает увеличение глияльной активации, маркеров окислительного стресса и нейродегенерации и в итоге может усугубить снижение когнитивных функций [9].

Доказано, что природный сульфорафан (SFN) в моделях нейродегенеративных заболеваний обладает защитным действием против нейротоксического пептида $A\beta$ 1-42 [10]. *In vivo* SFN улучшает когнитивные нарушения в мышинной модели острой БА [11].

NRF2 и болезнь Паркинсона

Болезнь Паркинсона (БП) – прогрессирующее и неизлечимое двигательное расстройство, которое сопровождается различной степенью когнитивной дисфункции и деменции. Это второе наиболее распространенное нейродегенеративное заболевание характеризуется потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции и накоплением внутриклеточных белковых агрегатов (телец Леви), обогащенных α -синуклеином [12].

SFN уменьшает секрецию амилоида и нормализует уровень цитокинов в астроцитах, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека [13]. В исследованиях *in vivo* обнаружено, что трет-бутилгидрохинон (tBHQ), активирующий NRF2, защищает от гибели клетки изолированных нейронов, подвергшихся воздействию β -амилоидов. Еще один активатор NRF2, куркумин (полифенол из корневищ куркумы), применяемый перорально, предотвращает синаптическую деградацию [14].

NRF2 и инсульт

Ишемический инсульт характеризуется уменьшением притока крови к участкам головного мозга, что приводит к повреждению мозговой ткани и неврологическим нарушениям [15]. Индуцированная трихостатином А активация NRF2 (в результате снижения экспрессии KEAP1) увеличивает жизнеспособность нейрональных клеток и уменьшает частоту возникновения инфаркта после инсульта [16]. Активация NRF2 с помощью SFN усиливает экспрессию цитопротективных генов в ткани мозга и сохраняет целостность гематоэнцефалического барьера, в то время как гинкголиды и билобалид активируют NRF2 и

снижают как уровень активных форм кислорода (АФК) в головном мозге, так и соотношение объема инфаркта при окклюзии средней мозговой артерии [17]. Активация NRF2 изокверцетином также снижает окислительный стресс и гибель нейронов после ишемии/реперфузии у мышей за счет ингибирования активации NF κ B [18].

NRF2 и атаксия Фридрейха

Атаксия Фридрейха – наследственное дегенеративное нервно-мышечное расстройство, поражающее в основном ганглии дорсальных корешков, зубчатые ядра мозжечка и сердце. В культивируемых моторных нейронах SFN повышает уровни фратаксина, а также количество нейритов [19]. Аналогично SFN повышает уровень экспрессии NRF2 в фибробластах от больных атаксией Фридрейха [19].

Наиболее популярные
терапевтические препараты
на основе NRF2-активирующих агентов

Активаторы NRF2 растительного происхождения. Применение эзофлавонов сои способствует повышению дилатации плечевой артерии, росту маркеров антиоксидантной защиты и снижению циркулирующих провоспалительных цитокинов, а также маркеров окислительного стресса [20].

SFN – изотиоцианат, содержащийся в крестоцветных (капуста брокколи, брюссельская и цветная капуста), активирующий NRF2 путем прямой электрофильной модификации цистеинов в Keap1 [21].

Благодаря способности SFN преодолевать гематоэнцефалический барьер он защищает от нейродегенеративных расстройств, что продемонстрировано на мышинных моделях. Что касается острого повреждения головного мозга, показано, что SFN проявляет защитные функции при гипоксически-ишемическом повреждении у крыс за счет снижения коэффициента инфарктов и активации NRF2 и гемоксигеназы-1 [22].

Активация NRF2 ресвератролом (полифенол) предотвращает ишемическое повреждение и уменьшает вызванный им окислительный стресс у грызунов [23].

Альфа-липоевая кислота (содержится в шпинате, брокколи, моркови и свекле) в моделях БП

снижает уровень АФК, активирует биогенез митохондрий, восстанавливает содержание натрия аденозинтрифосфата (АТФ) и сохраняет дофаминергические нейроны. Активация NRF2 альфа-липовой кислотой ингибирует потерю клеток после черепно-мозговой травмы, а также уменьшает объем инфаркта, окислительное повреждение и отек и способствует неврологическому восстановлению после инсульта [24].

Куркумин – линейный диарилгептаноид, модифицирует Cys151 в KEAP1, проявляет активность по инактивации АФК, применяется для лечения ожирения, метаболического синдрома и преддиабета. Показано, что куркумин подавляет вредное действие канцерогенов за счет активации NRF2 [25].

Синтетические активаторы пути NRF2. Диметилфумарат (ДМФ) представляет собой одобренный Федеральным управлением США по надзору за качеством продуктов питания и лекарственных средств (FDA) препарат для лечения РС под названием Tecfidera® [26]. В настоящее время ДМФ считается наиболее эффективным активатором NRF2, показаны его нейропротективные свойства при различных нейродегенеративных состояниях. Кроме того, ДМФ защищает клетки от токсичности α -синуклеина и β -амилоидов и может снижать гиперфосфорилирование тау-белка [27].

Трет-бутилгидрохинон (tBHQ) – пищевой консервант, является известным активатором NRF2. Показано, что tBHQ снижает нейротоксичность и образование β -амилоидов в нейронах линии NT2N и $A\beta$ -индуцированную гибель клеток у крыс [28].

Метформин – антигипергликемический препарат, используется в терапии диабета типа 2. Метформин защищает от повреждений, вызванных окислительным стрессом, за счет активации NRF2, которая, как показано, является нейрозащитной во многих моделях ишемического инсульта, БА, БП и РС у грызунов [29].

Таким образом, к настоящему времени уже показан потенциал активаторов NRF2. Хотя терапевтические методы, направленные на активацию NRF2, еще предстоит клинически исследовать, уже получены первичные доказательства положительного эффекта от применения антиоксидантных соединений. Еще одним перспектив-

ным современным направлением является применение экстрактов насекомых, потенциально более мощных, чем растительные, активаторов антиоксидантной защиты [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование природных антиоксидантов может иметь решающее значение для поддержания здоровья, увеличения продолжительности и повышения качества жизни. Показано, что комбинированная терапия с применением NRF2-активирующих соединений улучшает прогноз у пациентов с нейродегенеративными состояниями.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Cuadrado A. Structural and functional characterization of Nrf2 degradation by glycogen synthase kinase 3/ β -TrCP. *Free Radic Biol Med.* 2015; 88: 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.029>
2. Lewis KN, et al. Regulation of Nrf2 signaling and longevity in naturally long-lived rodents. *Proc Natl Acad Sci USA;* 112 (12): 3722–3727. <https://doi.org/10.1073/pnas.1417566112>
3. Quinti L, et al. KEAP1-modifying small molecule reveals muted NRF2 signaling responses in neural stem cells from Huntington's disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2017; 114 (23): 4676–4685. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614943114>
4. Browne P, et al. Atlas of multiple sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology.* 2014; 83 (11): 1022–1024. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000768>
5. Larabee CM, et al. Loss of NRF2 exacerbates the visual deficits and optic neuritis elicited by experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mol Vis.* 2016; 22: 1503–1513.
6. Montes Diaz G, et al. Dimethyl fumarate treatment in multiple sclerosis: Recent advances in clinical and immunological studies. *Autoimmun Rev.* 2018; 17 (12): 1240–1250. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.07.001>
7. Chan A, et al. Comparative effectiveness of delayed-release dimethyl fumarate versus glatiramer acetate in multiple sclerosis patients: Results of a matching-adjusted indirect comparison. *J Comp Eff Res.* 2017; 6 (4): 313–323. <https://doi.org/10.2217/cer-2016-0085>
8. Wang Q, et al. Meta-analysis of Parkinson's disease and Alzheimer's disease revealed commonly impaired pathways and dysregulation of NRF2-dependent genes. *J Alzheimers Dis.* 2017; 56 (4): 1525–1539. <https://doi.org/10.3233/JAD-161032>
9. Rojo AI, et al. NRF2 deficiency replicates transcriptomic changes in Alzheimer's patients and worsens APP and TAU pathology. *Redox Biol.* 2017; 13: 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.07.006>
10. Park HM, et al. Protection against amyloid beta cytotoxicity by sulforaphane: role of the proteasome. *Arch Pharm Res.* 2009; 32 (1): 109–115. <https://doi.org/10.1007/s12272-009-1124-2>

11. Kim HV, et al. Amelioration of Alzheimer's disease by neuroprotective effect of sulforaphane in animal model. *Amyloid*. 2013; 20 (1): 7–12. <https://doi.org/10.3109/13506129.2012.751367>
12. Bhat S, et al. Parkinson's disease: Cause factors, measurable indicators, and early diagnosis. *Comput Biol Med*. 2018; 102: 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2018.09.008>
13. Oksanen M, et al. NF-E2-related factor 2 activation boosts antioxidant defenses and ameliorates inflammatory and amyloid properties in human Presenilin-1 mutated Alzheimer's disease astrocytes. *Glia*. 2019. <https://doi.org/10.1002/glia.23741>
14. Chen WJ, et al. Protective effects of resveratrol on mitochondrial function in the hippocampus improves inflammation-induced depressive-like behavior. *Physiol Behav*. 2017; 182: 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.09.024>
15. Ding Y, et al. Antioxidant and pro-angiogenic effects of corilagin in rat cerebral ischemia via Nrf2 activation. *Oncotarget*. 2017; 8 (70): 114816–114828. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22023>
16. Wang B, et al. Histone deacetylase inhibition activates transcription factor NRF2 and protects against cerebral ischemic damage. *Free Radic Biol Med*. 2012; 52 (5): 928–936. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.12.006>
17. Liu Q, et al. Antioxidant effects of ginkgolides and bilobalide against cerebral ischemia injury by activating the Akt/Nrf2 pathway *in vitro* and *in vivo*. *Cell Stress Chaperones*. 2019; 24 (2): 441–452. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-00977-1>
18. Dai Y, et al. Isoquercetin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis after ischemia/reperfusion injury via Nrf2-mediated inhibition of the NOX4/ROS/NF- κ B pathway. *Chem Biol Interact*. 2018; 284: 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.017>
19. Petrillo S, et al. Nrf2-inducers counteract neurodegeneration in Frataxin-silenced motor neurons: Disclosing new therapeutic targets for Friedreich's ataxia. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (10): 2173. <https://doi.org/10.3390/ijms18102173>
20. Li Y, Zhang H. Soybean isoflavones ameliorate ischemic cardiomyopathy by activating Nrf2-mediated antioxidant responses. *Food Funct*. 2017; 8 (8): 2935–2944. <https://doi.org/10.1039/c7fo00342k>
21. Takaya K, et al. Validation of the multiple sensor mechanism of the Keap1-Nrf2 system. *Free Radic Biol Med*. 2012; 53 (4): 817–827. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.06.023>
22. Ping W, et al. Sulforaphane protects brains against hypoxic-ischemic injury through induction of Nrf2-dependent phase 2 enzyme. *Brain Res*. 2010; 1343: 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.036>
23. Gao Y, et al. Resveratrol mitigates the oxidative stress mediated by hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats via Nrf2/HO-1 pathway. *Pharm Biol*. 2018; 56 (1): 440–449. <https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1502326>
24. Lv C, et al. Alpha-lipoic acid promotes neurological recovery after ischemic stroke by activating the Nrf2/HO-1 pathway to attenuate oxidative damage. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 43 (3): 1273–1287. <https://doi.org/10.1159/000481840>
25. Hatcher H, et al. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci*. 2008; 65 (11): 1631–1652. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7452-4>
26. Deeks ED. Dimethyl fumarate: A review in relapsing-remitting MS. *Drugs*. 2016; 76 (2): 243–254. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0528-1>
27. Bahn G, Jo DG. Therapeutic approaches to Alzheimer's disease through modulation of NRF2. *Neuromolecular Med*. 2019; 21 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-08523-5>
28. Nouhi F, et al. Dietary supplementation with tBHQ, an Nrf2 stabilizer molecule, confers neuroprotection against apoptosis in amyloid beta-injected rat. *Neurochem Res*. 2011; 36 (5): 870–878. <https://doi.org/10.1007/s11064-011-0417-2>
29. Mudgal J, et al. Possible involvement of metformin in downregulation of neuroinflammation and associated behavioral changes in mice. *Inflammopharmacology*. 2019; 27 (5): 941–948. <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00638-w6>
30. Ushakova NA, et al. Novel extract from beetle *Uromoides dermestoides*: A study of composition and antioxidant activity. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 10 (7): 1055. <https://doi.org/10.3390/antiox10071055>

Поступила 25.06.2021

Принята к опубликованию 10.10.2021

Received 25.06.2021

Accepted 10.10.2021

Сведения об авторах

* Шиловский Григорий Александрович – научный сотрудник Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Российская Федерация, 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12. Тел.: 8(495)939-27-48. E-mail: gregory_sh@list.ru.

Сорокина Елена Владимировна – научный сотрудник биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Российская Федерация, 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12. Тел.: 8(495) 939-56-03. E-mail: evsorokina77@mail.ru.

Орловский Игорь Вячеславович – научный сотрудник отдела молекулярных основ онтогенеза, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Российская Федерация, 119992 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40. Тел.: 8(495)939-54-12. E-mail: igor.orrlovsky@belozersky.msu.ru.

*Автор, ответственный за переписку

About the authors

* Gregory A. Shilovsky – researcher, Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.
E-mail: gregory_sh@list.ru.

Elena V. Sorokina – researcher, Biology Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.
E-mail: evsorokina77@mail.ru.

Igor V. Orlovsky – researcher, Molecular Basis of Ontogenesis Department, A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. E-mail: igor.orlovsky@belozersky.msu.ru.

*The corresponding author

Личное участие авторов в работе

Г.А. Шиловский – биолог, специалист в области системной биологии старения. Поиск актуальных направлений в биogerонтологии. Идентификация объекта исследования – NRF2, сбор и анализ и материала, написание и оформление текста статьи, описание свойств и применения химических соединений и терапевтических препаратов. Координатор группы.

Е.В. Сорокина – биолог, специалист по тестированию окислительных препаратов. Характеристика биологического окисления и доклинического тестирования антиоксидантов в различных экспериментальных системах, анализ и обобщение материала.

И.В. Орловский – химик, молекулярный биолог, специалист в области молекулярной биологии, химии природных соединений, биоорганической и бионеорганической химии. Синтез, свойства и функционирование в биологических системах природных (аминокислоты, пептиды, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты, белки и др.) и синтетических соединений (органические, неорганические, координационные соединения и др.). Анализ и обобщение материала, написание и оформление текста статьи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект 18-29-13037).

The authors declare no conflict of interest.

Funding: the study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project No.182913037).