

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ТРОМБОЦИТАРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОК, ИМЕЮЩИХ ПОЛИМОРФИЗМ А<sup>2</sup> ГЕНА СУБЪЕДИНИЦ РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ ГЛИКОПРОТЕИНА IIb/IIIa****Т. П. Бондарь<sup>1</sup>, А. Ю. Муратова<sup>2</sup>**<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Институт живых систем

Поступила в редакцию 7.02.2017 г.

**Аннотация.** У пациенток с полиморфизмом А<sup>2</sup> гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa отмечается повышение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции и усиление свободнорадикальных реакций, а также увеличение геометрических параметров тромбоцитов, усиление их функциональной активности и появление молодых клеток в периферической крови. Выявлена корреляционная связь параметров тромбоцитарного гемостаза и выраженности свободнорадикальных реакций у женщин с тромбофилией, имеющих полиморфизм А<sup>2</sup> в гене субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.

**Ключевые слова:** полиморфизм генов, свободнорадикальные реакции, тромбоциты, тромбофилия

**Abstract.** Patients with the gene polymorphism of the А<sup>2</sup> subunit of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor is marked increase in markers of endothelial dysfunction and increased free-radical reactions, as well as marked increase in the geometric parameters of platelets, increasing their functional activity and the emergence of new cells in the peripheral blood. Correlation dependence of platelet hemostasis parameters on the severity of free radical reactions in women with thrombophilia with a polymorphism in the platelet А<sup>2</sup> receptor subunit gene of glycoprotein IIb/IIIa.

**Keywords:** gene polymorphism, free-radical reactions, platelets, thrombophilia

В настоящее время установлено, что генетические аномалии гемостаза обнаруживаются у пациентов с тромбозами в 80 – 90 % случаев. Мутация фактора V Leiden выявляется у 20 % пациентов, другие дефекты антикоагулянтной системы (дефицит антитромбина III, дефицит протеина C и S) – в 20 % случаев, синдром липких тромбоцитов – в 14 % случаев и др. [2, 10]. В современной литературе встречаются разрозненные данные о связи генетического полиморфизма гена рецепторов тромбоцитов (Tr) гликопротеина (GP) IIb/IIIa с развитием тромбозов, но сведения о свя-

зи данного полиморфизма с развитием типично акушерской патологии весьма противоречивы [2].

Тромбофилические осложнения беременности и родов в настоящее время рассматриваются с позиции развития синдрома полиорганной недостаточности, в основе которого лежит системная эндотелиальная дисфункция [4, 9, 11], а в качестве провоцирующего фактора выступает окислительный стресс, в результате которого происходит образование продуктов перекисного окисления липидов – свободных радикалов и атомарного кислорода, повреждающих эндотелий [8, 12].

Механизмы взаимосвязи коагуляции, ангиопа-

тии и развития окислительного стресса с позиций современных представлений и их нарушение у пациенток с генетической тромбофилией (ТФ) не исследованы.

Дефекты гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa приводят к усилению функциональных свойств Тр, способствуют повышению тромбогенных свойств эндотелия [1, 3, 6, 13,].

Целью нашего исследования являлась комплексная оценка и установление взаимосвязи между уровнем свободнорадикальных реакций, состоянием сосудистой стенки и изменениями параметров тромбоцитарного гемостаза у беременных женщин с генетическим полиморфизмом  $A^2$  гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Обследовано 226 женщин в III триместре беременности, находящихся на лечении в акушерском отделении патологии беременности городской больницы г. Ставрополя. Возраст пациенток колебался от 20 до 35 лет, в среднем составил  $25.2 \pm 0.6$  лет. 74 пациентки имели различные акушерские осложнения, ассоциированные с ТФ, у 152 женщин беременность протекала без особенностей.

Взятие крови проводилось с согласия лечащего врача при соблюдении правил преаналитического этапа исследования.

Все обследованные были разделены на следующие группы:

I – женщины с физиологическим течением беременности, носительством нормального варианта гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa ( $P1^{A1}/P1^{A1}$ ) ( $n=128$ ) – контрольная группа;

II – здоровые беременные с гетерозиготным вариантом мутации ( $P1^{A1}/P1^{A2}$ ) ( $n=24$ );

III – пациентки с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом ( $P1^{A1}/P1^{A2}$ ) ( $n=35$ );

IV – пациентки с ТФ и гомозиготным полиморфизмом  $P1^{A2}/P1^{A2}$  ( $n=39$ ).

Из исследования были исключены пациентки с другими подтвержденными мутациями генов системы гемостаза.

Определение генотипа по полиморфизму  $P1^{A1}/P1^{A2}$  проводили амплификационно-рестрикционным методом. Выделение ДНК осуществляли сорбционным методом при помощи набора «ДНК-сорб Б». Амплификационные смеси готовили на основе универсального набора реактивов и препаратов для ПЦР «Ампли Сенс-200-1» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Праймеры были синтезированы в ООО «Литех» в соответствии с по-

следовательностями описанными *Vojesen S.E. et al.*, 2000 [13].

В качестве показателя, характеризующего состояние эндотелия сосудистой стенки, использовали уровень активности фактора Виллебранда (ФВ). Определение уровней ФВ проводили на анализаторе гемостаза «STA Compact» («Diagnostica Stago», Франция) реактивами «vWF STA LIATEST» методом латекс-агглютинации с моноклональными антителами к фактору. В качестве маркера окислительного стресса использовали показатели содержания малонового диальдегида (МДА) в образцах. Исследование проводили в сыворотке крови методом *Jagi K., Nishigaki I., Chama H.*, 1968 [7] и тромбоцитах методом по *J. Smith*, 1976 [14].

Количественные показатели Тр определяли с помощью автоматического гематологического анализатора «Advia 2120 i» («Simens», Германия). Анализировали 4 тромбоцитарных параметра: PLT - общее количество Тр в периферической крови и тромбоцитарные индексы (MPV, PCT, PDW). Исследование функциональной активности Тр проводили в богатой Тр плазме методом *Born G.V.R.*, 1962 [5] с графической регистрацией на лазерном агрегометре БИОЛА LA-23 (Россия). В качестве индукторов использовали АДФ (200 мкМ), коллаген (0,2 мг/мл), ристоцетин (5 мкМ/мл). Для исследования морфометрических параметров Тр в мазках крови использовали компьютерную морфометрическую установку МЕКОС-Ц (ЗАО «Медицинские компьютерные системы», г. Москва). В ходе исследования анализировали следующие геометрические и цветояркие характеристики Тр: площадь клетки, диаметр клетки, фактор формы, доля синего и красного цвета в препарате, индекс омоложения Тр (ИОТр).

Степень достоверности различий изучаемых показателей определяли по критерию t-Стьюдента при доверительной вероятности  $p < 0,05$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Об изменениях свободнорадикального окисления и состоянии сосудистой стенки у женщин судили по содержанию МДА в сыворотке крови и Тр и уровню ФВ.

Изменения метаболических показателей представлены в таблице 1.

При проведении сравнительного анализа данных выявлено, что у женщин без клинических проявлений ТФ (I и II группы) показатели не выходили за рамки референсных границ, однако у

Таблица 1.

Гуморальные показатели беременных женщин ( $\bar{x} \pm t$ )

Показатели, единицы измерения	Группы беременных женщин			
	I (n=128)	II (n=24)	III (n=35)	IV (n=39)
МДА сыворотки, мкмоль/л	3.29±0.15	3.31±0.24	5.17±0.28*	6.91±0.37*
МДА Тр, мкмоль/10 <sup>9</sup> Тр	1.82±0.09	2.61±0.19*	3.7±0.16*	5.5±0.29*
ФВ, %	112.6±2.34	116.9±2.54	148.7±2.73*	212.6±2.27*

Примечание: \* – различия достоверны по сравнению с I группой пациенток,  $p \leq 0.001$

пациенток с гетерозиготным полиморфизмом выявлено достоверное повышение уровня МДА Тр ( $p < 0,001$ ).

Анализ данных пациенток с ТФ выявил усиление липоперекисных процессов в сыворотке и Тр у всех женщин в сравнении с показателями контрольной группы. В наибольшей степени был изменен показатель МДА Тр у женщин с гомозиготным вариантом полиморфизма (P1<sup>A2</sup>/P1<sup>A2</sup>). Разница этого показателя в сравнении с I группой составила 202 %. Показатель МДА сыворотки был увеличен на 110 %. В группе женщин с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом показатели МДА сыворотки и Тр были выше на 57.1 % и 103 %, соответственно. У здоровых женщин с гетерозиготным полиморфизмом также отмечено достоверное ( $p < 0.001$ ) увеличение показателя МДА Тр.

Уровень ФВ достоверно отличался только у пациенток с ТФ и полиморфизмом A<sup>2</sup> ( $p < 0.001$ ). Наибольшие изменения этого показателя отмечены у IV группы женщин. От показателя I группы он отличался на 88.8 %.

Таким образом, у пациенток с ТФ и полиморфизмом A<sup>2</sup> усиление свободнорадикальных реакций свидетельствует о комплексном характере гу-

моральных и гемостазиологических расстройств.

Выявление достоверных изменений показателей у здоровых беременных женщин II группы показывает влияние полиморфизма гена A<sup>2</sup> на развитие признаков эндотелиальной дисфункции даже без наличия клинических проявлений ТФ, что может свидетельствовать о высокой чувствительности этих показателей к наличию генетического дефекта.

С целью оценки влияния генетического полиморфизма GP IIb/IIIa на состояние тромбоцитарного гемостаза проводили исследование общего количества Тр в периферической крови (PLT) и тромбоцитарных индексов (MPV, PCT, PDW), агрегационной активности Тр и показателей морфометрического анализа. Полученные данные представлены в таблице 2.

При проведении сравнительного анализа данных количественных параметров Тр обнаружено, что у женщин без клинических проявлений тромбофилии (I и II группы) показатели количества Тр и тромбоцитарные индексы практически не отличались между собой.

При сравнении количественных параметров Тр у женщин без клинических проявлений ТФ с

Таблица 2.

Изменение показателей тромбоцитов здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ( $\bar{x} \pm t$ )

Показатели, ед. измерения	Группы пациенток			
	I (n=128)	II (n=24)	III (n=35)	IV (n=39)
PLT, 10 <sup>9</sup> /л	265.7±7.6	271.8±7.9	289.8±11.8	234.1±12.3*
MPV, фл	9.2±0.18	9.5±0.20	10.9±0.25*	11.2±0.27*
PCT, %	0.25±0.008	0.24±0.008	0.25±0.007	0.25±0.008
PDW, %	16.9±0.17	16.8±0.18	18.2±0.17*	18.4±0.17*
Агрегация с АДФ, %	46.0±0.69	51.1±1.71*	78.4±2.97*	79.4±3.68*
Агрегация с коллагеном, %	42.0±0.83	45.0±1.96	65.3±2.74*	68.0±2.77*
Агрегация с ристоцетином, %	47.5±0.74	51.2±1.82	86.3±2.36*	89.1±2.11*
Средний диаметр Тр, мкм	2.24±0.10	2.31±0.15	2.66±0.13*	2.81±0.12*
Площадь Тр, мкм <sup>2</sup>	3.65±0.41	3.96±0.44	5.48±0.44*	6.33±0.44*
Фактор формы, у.е.	12.8±0.15	13.5±0.17*	15.12±0.17*	16.18±0.18*
Доля синего цвета, у.е.	0.32±0.002	0.37±0.007*	0.45±0.007*	0.52±0.007*
Доля красного цвета, у.е.	0.42±0.002	0.39±0.007*	0.34±0.007*	0.31±0.007*
ИОТр, у.е.	0.76±0.005	0.94±0.07*	1.32±0.07*	1.67±0.11*

Примечание: \* - различия достоверны по сравнению с группой I,  $p < 0,05$ .

носителем нормального варианта гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa и женщин, имеющих гетерозиготный вариант полиморфизма ( $P1^{A1}/P1^{A2}$ ) - группа III, выявлено достоверное изменение показателей MPV и PDW, которые составили в среднем 10.9 фл и 18.2 % соответственно ( $p \leq 0,01$ ).

У пациенток с гомозиготным вариантом мутации гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa ( $P1^{A2}/P1^{A2}$ ) наиболее выражены изменения количественных показателей Тр. Отмечается достоверное ( $p \leq 0,05$ ) снижение количества Тр в периферической крови ( $234.1 \pm 12.3 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p \leq 0,05$ ), увеличение среднего объема Тр ( $11.2 \pm 0.27$  фл) и показателя анизотоза Тр ( $18.4 \pm 0.16$  %) в сравнении с данными здоровых родильниц ( $p \leq 0,001$ ) I группы.

Анализ данных агрегатограмм показал, что в группах здоровых родильниц достоверно отличалась агрегация, индуцированная АДФ ( $p \leq 0,01$ ) и имела тенденция к увеличению степени агрегации с коллагеном и ристоцетином в группе женщин, имеющих гетерозиготную мутацию в гене рецепторов Тр GP IIb/IIIa. У пациенток с ТФ и полиморфизмом гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa  $P1^{A1}/P1^{A2}$  имелось усиление агрегации Тр на воздействие АДФ на 66 %, на воздействие ристоцетина на 81 % и на воздействие коллагена на 55 %, в сравнении с показателями в группе здоровых женщин с нормальным генотипом. В группе женщин с полиморфизмом  $P1^{A2}/P1^{A2}$  агрегационная активность, индуцированная АДФ, ристоцетином и коллагеном в указанных концентрациях, была выше на 68 %, 87 % и 61 %, соответственно.

При анализе морфометрических показателей Тр здоровых женщин выявлено увеличение функциональной активности Тр в группе II, о чем свидетельствует достоверное ( $p \leq 0,001$ ) повышение показателя фактора формы. Кроме того наблюдалось увеличение количества молодых Тр, что проявлялось в увеличении доли синего и уменьшении доли красного цвета в препарате. ИОТр достоверно был выше в группе II и составлял 0.94 у.е. (в I группе - 0.76 у.е.), что отражает активацию Тр у пациенток, имеющих полиморфизм  $P1^{A1}/P1^{A2}$  по сравнению с женщинами с нормальным генотипом. Наблюдалась тенденция к увеличению показателей диаметра и площади Тр.

У пациенток с клиническими проявлениями ТФ достоверно ( $p \leq 0,001$ ) были увеличены средний диаметр Тр, площадь клетки, фактор формы и ИОТр.

Так, наиболее ярко все геометрические и цветояркие параметры изменялись у пациенток с клиническими проявлениями ТФ и гомозигот-

ным вариантом полиморфизма ( $P1^{A2}/P1^{A2}$ ). При этом разница между средним диаметром Тр, выраженная в процентах, между пациентками группы V и здоровыми женщинами I группы составила 25.4 %, между показателями площади Тр – 73.4 %, фактора формы – 26.4 %. У пациенток с полиморфизмом  $P1^{A1}/P1^{A2}$  диаметр клеток был больше на 18.7 %, фактор формы – на 18.1 %, а площадь Тр увеличена на 50.9 %. У женщин, имеющих генотип  $A^1A^2$  показатели диаметра, площади и фактора формы были увеличены на 9.8 %, 50.9 % и 10.2 % в сравнении с данными женщин I группы.

Оценку интенсивности «омоложения» Тр проводили по степени изменения ИОТр. Появление молодых Тр выявлено во всех группах женщин с клиническими проявлениями ТФ, но в наибольшей степени – у пациенток с гомозиготной мутацией (1.67 у.е.). В группах женщин с нормальным генотипом и гетерозиготной мутацией этот показатель составил 1.31 и 1.32 у.е., соответственно.

Таким образом, у пациенток, имеющих полиморфизм  $P1^{A2}/P1^{A2}$ , отмечалось достоверное ( $p \leq 0,001$ ) увеличение геометрических параметров с увеличением функциональной активности Тр и появление молодых клеток в периферической крови. В группах родильниц с нормальным генотипом и полиморфизмом  $P1^{A1}/P1^{A2}$  выявлены аналогичные изменения, но степень возрастания показателей была у них немного ниже, чем у пациенток с генотипом  $P1^{A2}/P1^{A2}$ .

О важной роли генетического дефекта гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa в развитии тромботических осложнений беременности и родов свидетельствует тот факт, что наиболее выраженные изменения количественных, функциональных и морфометрических параметров Тр наблюдалось в группе пациенток, имеющих гомозиготный вариант  $P1^{A2}/P1^{A2}$ .

Так как гетерозиготный вариант мутации ( $P1^{A1}/P1^{A2}$ ) встречался и у здоровых женщин, не имеющих клинических проявлений ТФ, то можно предположить, что генетический полиморфизм субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa не обязательно ведет к возникновению болезни, возможно, этому способствуют другие провоцирующие факторы. Обнаружение мутаций и полиморфизма в генах является показанием к мониторингу состояния системы гемостаза, так как наличие полиморфизма в гене субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa, а особенно при сочетании с другими дефектами генов, может ассоциироваться с риском развития тромбозов.

Факт, что наличие А<sup>2</sup> гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa у беременных женщин индуцировал усиление свободнорадикальных реакций, привел нас к выводу о влиянии вышеуказанных расстройств на показатели тромбоцитарного гемостаза женщин с полиморфизмом А<sup>2</sup>.

Для подтверждения этого нами проведен корреляционный анализ гуморальных и тромбоцитарных показателей (таблица 3).

Таблица 3.

Корреляционная зависимость гуморальных и тромбоцитарных показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемостаза	Коэффициент корреляции
МДА сыворотки	PDW	R=0.33
	Агрегация с АДФ	R=0.35
	Фактор формы Тр	R=0.34
МДА Тр	MPV	R=0.42
	PDW	R=0.55
	Агрегация с АДФ	R=0.61
	Площадь Тр	R=0.53
	Фактор формы Тр	R=0.42
	ИОТр	R=0.45

При проведении корреляционного анализа нами установлены положительные корреляционные связи между уровнем МДА сыворотки и показателем гетерогенности популяции Тр (R=0.33), степенью агрегации в присутствии АДФ (R=0.35) и показателем фактора формы Тр (R=0.34). Показатели ПОЛ в мембранах Тр находились в тесной корреляционной связи с параметрами гемостаза. Наиболее значимыми оказались связи интенсивности ПОЛ с функциональными свойствами Тр, о чем свидетельствовало наличие положительных корреляционных связей между объемом Тр, гетерогенностью тромбоцитарной популяции и агрегацией в присутствии АДФ, фактором формы Тр и ИОТр.

На основании корреляционного анализа выявлена связь параметров тромбоцитарного гемостаза с выраженностью свободнорадикальных реакций у женщин с ТФ, имеющих полиморфизм А<sup>2</sup> в гене субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муратова А.Ю. Влияние полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на изменение показателей

плазменного гемостаза в раннем послеродовом периоде / А.Ю.Муратова, Т.П.Бондарь // Фунд. аментальные исследования. — 2014. — № 7. — Ч.3. — С. 544-548.

2. Тромбозы и тромбоэмболии в акушерско-гинекологической клинике: Молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбоэмболических осложнений: Рук. для врачей. / А.Д. Макацария и др. — М.: ООО «Мед. информ. агентст.», 2007. — 1064 с.

3. Хаспекова С.Г. и др. Вариации содержания гликопротеина IIb-IIIa (альфаIIb/бэта3 интегрин) у здоровых доноров. Влияние на агрегационную активность тромбоцитов и эффективность действия аспирина / Хаспекова С.Г. и др. // Биомедицинская химия: научно-практический журнал / НИИ биомедицинской химии РАМН (Москва). — 2008. — Том 54. - № 3. — С. 361-371.

4. Эндотелиальная дисфункция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика / Мозговая Е.В., Малышева О.В., Иващенко Т.Э. и др. — С-Петербург: Изд. Н-Л, 2005. — 32 с.

5. Born G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal / G.V.R. Born // Nature. — 1962. — Vol. 194., № 4832. — P. 927 – 929.

6. Frey U.H., Aral N. Muller N. Siffert W. Cooperative effect of GNB3 8250T and GPIIIa PL(A) polymorphisms in enhanced platelet aggregation / U.H. Frey et al. // Thromb. Res. — 2003. — № 109 (5-6). — P. 279-286.

7. Jagi K. Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and patient with toxemia of pregnancy / K. Jagi, I. Nishigaki, H.Chama // Jap. J. Vitamin. — 1968. — V. 84. — P. 1-9.

8. Jauniaux E. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution / E. Jauniaux, L. Poston, G.J. Burton. — London: UK. Placenta, 2007. — Vol. 28. № 1. — P. 52-58.

9. Jeffrey S. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: Linking placental ischemia with endothelial dysfunction / S. Jeffrey, W. Gilbert. // Am. j. physiol. heart. circ. Physiol. — 2008. — № 294. — P. 541-550.

10. Levine J.S. The antiphospholipid syndrome. J.S. Levine, D.W. Branch, J. Rauch // N. engl. j. med. — 2002. — № 346(10). — P. 752-763.

11. Mutter W.P. Molecular mechanisms of preeclampsia / W.P. Mutter, S.A. Karumanchi // Microvasc. res. — 2008. — Vol. 75. № 1. — P. 1-8.

*Бондарь Т. П., Муратова А. Ю.*

12. Patil S.B. Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension S.B. Patil, M.V. Kodliwadmath, S.M. Kodliwadmath // Taiwan J. obstet gynec. — 2006. — Vol. 45. № 3. Pt. 1. — P. 89-200.

13. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa P1A2/ P1A2 Homozygosity Associated With Risk of Ischemic Cardiovascular Disease and Myocardial Infarction

in Young Men / Bojesen.E. et al. // Journal of the American College of Cardiology. — 2003. — Vol. 42. — No 4. — P. 661-667.

14. Smith J.B. Malondialdehyde formation as an indicator of prostadlandin production by human platelets / J.B. Smith // J. Clin. Med. — 1976. — vol. 88. — No 2. — P 167-172.

*ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Институт живых систем*

*Муратова А. Ю., доцент кафедры медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации*

*E-mail: anna.murato@yandex.ru*

*FGAOU VO «North Caucasian Federal University», Living Systems Institute*

*Muratova A.Yu., Candidate of Medical Sciences; assistant professor*

*E-mail: anna.murato@yandex.ru*

*ФГАОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»*

*Бондарь Т. П., профессор, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биотехнологии и клинической биохимии*

*E-mail: c11111983@yandex.ru*

*FGAOU VO «Stavropol State Medical University»*

*Bondar T.P., professor, Doctor of Medical Sciences, Head of Biotechnology and of Clinical Biochemistry Department*

*E-mail: c11111983@yandex.ru*