

УДК 574.2 + 577.112 + 612.68

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ ПРИКАРПАТЬЯ

Козовый Р.В., Эрстенюк Г.М.

ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»,
Ивано-Франковск, e-mail: ruslan_kozoviy@ukr.net

Проведен анализ показателей функционального состояния ферментативной системы детоксикации ксенобиотиков и окислительной модификации белков в сыворотке крови 60 долгожителей (основная группа) и 30 человек зрелого возраста, в родословных которых не было долгожителей (группа сравнения). Выявлено, что активность глутатионпероксидазы у всех долгожителей составила $(0,329 \pm 0,18)$ мкмоль/(мин·мг), а в группе сравнения $(0,353 \pm 0,17)$ мкмоль/(мин·мг). Активность фермента глутатионредуктазы у долгожителей Прикарпатья в 3,17 раза больше по сравнению с лицами зрелого возраста. Установлена тенденция к снижению активности глутатион-S-трансферазы у долгожителей $(0,305 \pm 0,31)$ мкмоль/(мин·мг) относительно показателей группы сравнения $(0,345 \pm 0,18)$ мкмоль/(мин·мг). Доказано статистически достоверное снижение уровня продуктов окислительной модификации белков альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального характера в основной группе относительно сравнительной. Интенсификация процессов окислительной модификации белков у долгожителей сопровождалась увеличением альдегидо- и кетонпроизводных основного характера по сравнению с лицами зрелого возраста. Полученные результаты могут свидетельствовать о лучшем функционировании у долгожителей защитных противорадикальных систем по сравнению с лицами зрелого возраста.

Ключевые слова: долгожители, окислительные модификации белков, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза

OXIDATIVE MODIFICATION INDICATORS OF BLOOD SERUM PROTEINS AND GLUTATHIONE ENZYME ACTIVITY OF LONG LIVERS' CARPATHIAN REGION

Kozoviy R.V., Erstenyuk H.M.

SHEE «Ivano-Frankivsk National Medical University», Ivano-Frankivsk, e-mail ruslan_kozoviy@ukr.net

The analysis of the functional state of the enzymatic detoxification of xenobiotics and oxidative modification of proteins in the serum of 60 long livers (study group) and 30 individuals having no long livers in their family trees (control group) was done. It was found that the activity of glutathione peroxidase in all long livers was respectively $(0,329 \pm 0,18)$ mmol/(min·mg) (study group), and $(0,353 \pm 0,17)$ mmol/(min·mg) (control group). The activity of the enzyme glutathione reductase in long livers (Carpathian region) was 3,17 times higher compared with persons of control group. Tendency to decreased GST activity respectively in long livers $(0,305 \pm 0,31)$ mmol/(min·mg) and control group $(0,345 \pm 0,18)$ mmol/(min·mg) was found out. The significant reduction of oxidative modification of protein products of neutral aldehyde and ketone derivatives in study group compared with control one was proved statistically. The intensification of the processes of oxidative modification of proteins in long livers was accompanied by an increase by means of aldehyde and ketone derivatives compared with persons of mature age. These results may indicate better functioning of antiradical protection of long livers compared with persons of old age.

Keywords: long livers, protein oxidative modifications, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase

Революционный взгляд на молекулярные механизмы развития живых систем предлагает молодая динамичная наука эпигенетика [12]. По мнению проф. А.М. Вайсермана, эпигенетика – направление генетики, сравнительно недавно оформилась в самостоятельную область исследований. Одна из наиболее вдохновляющих эпигенетических гипотез о том, что активность многих генов подвержена влиянию извне, сейчас находит подтверждение в экспериментах на модельных животных. Известно, что продолжительность жизни – это мультифакторной признак, а следовательно, на его проявление влияют не только наследственные, но и внешние факторы. Довольно часто они имеют отрицательный эффект.

В условиях современной антропогенной нагрузки становится актуальным изучение

особенностей функционирования детоксикационных систем. Процесс биотрансформации, который включает ферментативное превращение инородных включений или ксенобиотиков, делится на три фазы [10, 14, 17, 19]. Первая фаза активации ксенобиотиков или метаболической трансформации заключается в присоединении к ним модифицирующих функциональных групп ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$). При этом происходят реакции окисления, восстановления и гидролиза, в результате которых образуются промежуточные метаболиты. Этот процесс катализируется микросомальной ферментативной системой цитохрома P450 (семья ферментов цитохромов) и некоторыми другими ферментами классов оксидаз, редуктаз, гидролаз и дегидрогеназ. В процессе второй фазы биотрансформации – нейтрализации,

промежуточные метаболиты соединяются с эндогенными лигандами, которые усиливают гидрофильную природу этих соединений, тем самым способствуют их выведению из организма. Вторая фаза заключается в конъюгации высокомолекулярных гидрофильных веществ с различными субстратами, в результате чего они превращаются в гидрофильные конъюгаты, способные к экспрессии с желчью. Третья фаза заключается в эвакуации или выведении водорастворимых нетоксичных веществ из организма. Для этого есть специальные переносчики экзогенных соединений – Р-гликопротеины, которые способствуют экскреции ксенобиотиков в желчь или кровь.

Известно, что любой адаптивный или патологический процесс протекает на фоне образования активных форм кислорода [5, 9]. В условиях окислительного стресса активно протекают процессы пероксидации белков, что в конечном итоге приводит к потере их биологической активности, при этом окислительно модифицированные белки генерируют новые антигены и негативно влияют на иммунный ответ [16, 20]. Активные формы кислорода вызывают окислительную модификацию белков (ОМБ) в условиях нормы и патологии. При нормальном функционировании организма поддерживается динамическое равновесие между антиоксидантами и прооксидантными системами. Оксидация белков является нормальным функциональным процессом в организме, с которым связаны жизненно важные функции. Причем последние в значительной степени взаимосвязаны с защитными и адаптационными реакциями организма, а именно в процессе биотрансформации ксенобиотиков. Повышение уровня продуктов ОМБ является результатом нарушения равновесия между процессами, регулирующими синтез и оксидации протеинов, и уменьшение активности протеаз, которые селективно расщепляют оксидированные формы белков. ОМБ может включать прямую фрагментацию белков или вызывать их денатурацию с частичной или полной потерей функций [7]. Такие изменения приводят к снижению адаптационных процессов организма в целом, что способствует развитию патологических состояний. На экспериментальных животных доказано, что старение сопровождается накоплением продуктов окислительной модификации белков в определенных тканях организма [15].

В результате наших предыдущих исследований установлены ассоциации делецийных аллелей генов GSTT 1 и GSTM 1 с продолжительностью жизни. С позиции функциональной геномики крайне важным

является определение активности ферментных систем биотрансформации ксенобиотиков, ведь существование функциональных различий между аллелями в пределах одного локуса обуславливают аллельные дифференциации в экспрессии уровня белка, эффективности транспортной функции, активности, термостабильности фермента, иммунного ответа и т.п. Особый интерес принадлежит исследованию этих процессов у долгожителей.

Цель работы – изучение взаимосвязи между ферментативной активностью глутатионовой системы, показателей окислительных модификаций белков в плазме крови и продолжительностью жизни в популяции долгожителей Прикарпатья.

Материалы и методы исследования

Функциональное состояние ферментативной системы детоксикации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты изучали по показателям сыворотки крови 60 долгожителей (основная группа) и 30 человек зрелого возраста, в родословных которых не было долгожителей (группа сравнения). Активность глутатион-S-трансферазы (GST) оценивали по скорости образования глутатион-S-конъюгатов между восстановленным глутатионом 1 – хлор-2, 4 – динитробензола [8]. Активность глутатионредуктазы (GRD) определяли по скорости изменения оптической плотности при 340 нм, обусловленного окислением НАДФ•Н [2], глутатионпероксидазы (GPO) – по реакции взаимодействия восстановленного глутатиона с гидроперекиситрет-бутила [11]. Продукты окислительной модификации белков (ОМБ) в сыворотке крови исследовали методом А.Ю. Дубининой [6], основанным на взаимодействии окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ). Степень ОМБ оценивали по содержанию альдегидо- и кетонпроизводные белков нейтрального и основного характера. Пробы спектрофотометрировали при длине волн 356, 370, 430 и 530 нм.

Для статистического анализа полученных данных использовали метод программного обеспечения Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате метаболических превращений веществ в организме человека образуются свободные радикалы, обладающие высокой химической активностью, вызывают процессы пероксидации липидов, белков, нуклеиновых кислот [4]. Возникнув в организме, они вступают во взаимодействие со структурами клетки, приводя в итоге к повреждению клетки, вызывая, таким образом, развитие патологического процесса. Уменьшают повреждающее воздействие свободных радикалов ферменты, обеспечивающие антиоксидантную защиту. К мощным антиоксидантам относится система глутатиона.

При исследовании ферментов глутатионовой системы установлено, что активность GPO в группе долгожителей составила $0,329 \pm 0,18$ мкмоль/(мин·мг), а в группе сравнения $0,353 \pm 0,17$ мкмоль/(мин·мг) (таблица). Глутатионпероксидаза – фермент, который принимает участие в инактивации перекиси водорода и органических пероксидов в клетках высших животных и людей. GPO – гликопротеин, имеющий в активном

центре четыре атома селена. Он является гидрофильным соединением, что затрудняет его проникновения в липидный слой мембран, основная часть фермента локализована в цитозоле, а другая – в митохондриях. GPO имеет селеновые изоферменты: внеклеточный GPO, обнаруженный в плазме и молоке, GPO-G1, выделенный из цитозоля клеток печени кишечника, а также неселеновый изофермент, идентичен GST.

Активность ферментов глутатионовой системы у долгожителей Прикарпатья, $M \pm m$

Исследуемые группы	Активность фермента, мкмоль/(мин·мг)		
	GPO	GRD	GST
Основная, $n = 60$	$0,329 \pm 0,18$	$0,219 \pm 0,12$ *	$0,305 \pm 0,31$
Сравнительная, $n = 30$	$0,353 \pm 0,17$	$0,069 \pm 0,05$	$0,345 \pm 0,18$

Примечание. * – Достоверность различий с показателями группы сравнения ($p < 0,05$).

Результаты исследования функциональной активности генов GPO у мышей показали, что при нокаутном варианте в одном аллельном гене глутатионпероксидазы имеют нормальный фенотип, нормальную продолжительность жизни [18]. Эти данные указывают на то, что данный фермент не является критическим для жизнедеятельности. Однако у мышей нокаутных по двум копиям и гена, рано развивается катаракта и наблюдаются дефекты в пролиферации вспомогательных мышечных клеток. Однако мыши, нокаутные по гену GPO-G4 (глутатионпероксидазы – 4), погибают в течение раннего эмбрионального развития. Существуют данные о том, что пониженный уровень глутатионпероксидазы – 4 может повышать продолжительность жизни у мышей [3]. Активность GPO в живых клетках увеличивается при действии ионизирующей радиации, акрилонитрила, интоксикации этанолом, при Е-авитаминозе. Особенно важна роль GPO в условиях окислительного стресса, поскольку предупреждает возникновение и развитие процессов перекисидации. GPO является одним из важнейших компонентов ферментативной антиоксидантной системы.

В реакциях, катализируемых GPO, образуется окисленный глутатион (GSSG), для его восстановления в клетках существует специальный фермент – глутатионредуктаза [17]. Не менее важной в системе детоксикации ксенобиотиков является глутатион-S-трансфераза. Основная функция GST – защита клеток от ксенобиотиков и продуктов перекисного окисления посредством их восстановления, присоединения к субстрату молекулы глутатиона или нуклеофильного замещения гидрофобных групп. Проведенные нами исследова-

ния показали, что активность GRD и GST у долгожителей составила ($0,219 \pm 0,12$) и ($0,305 \pm 0,31$) мкмоль/(мин·мг) (см. таблицу), в группе сравнения соответственно – ($0,069 \pm 0,05$) и ($0,345 \pm 0,18$) мкмоль/(мин·мг). Таким образом, полученные результаты показывают, что при почти одинаковой активности GST как в исследуемой, так и в группе сравнения активность фермента GRD у долгожителей в 3,17 раза больше чем у лиц зрелого возраста.

Изучив уровень продуктов ОМБ в плазме долгожителей, нами установлено снижение ($p < 0,05$) альдегидо- и кетонпроизводные нейтрального характера с максимальным поглощением при длине волны 356 и 370 нм до ($1,142 \pm 0,050$), ($1,048 \pm 0,035$) и ($1,414 \pm 0,176$), ($1,246 \pm 0,098$) в группе сравнения (рисунок).

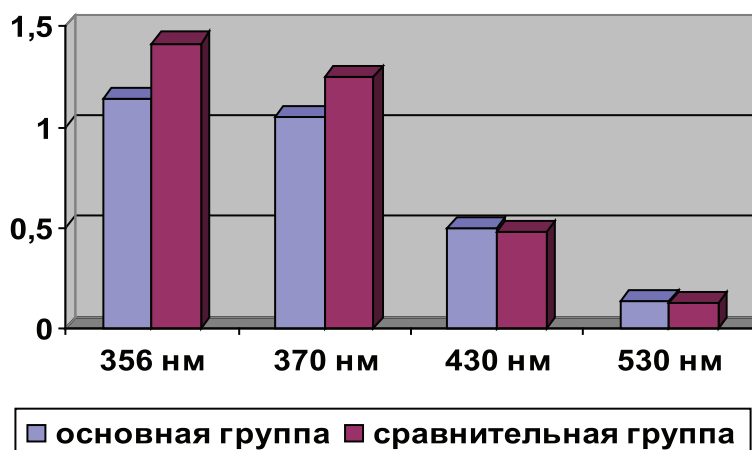
Такая тенденция может свидетельствовать о лучшей регуляции синтеза и меньшей оксидации протеинов у долгожителей, увеличение активности протеаз, селективно расщепляющих окисленные формы белков. Учитывая, что лица исследуемой и сравнительной групп находились в одинаковых экологических условиях, меньшая интенсификация ОМБ альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального характера в долгожителей может указывать на лучшее функционирование защитных протирадикальных систем.

Исследование альдегидо- и кетонпроизводных основного характера показало, что у долгожителей по сравнению с лицами зрелого возраста более высокий уровень этих продуктов в плазме крови, однако эти различия не были статистически значимы ($p > 0,05$).

Изучение влияния различных токсических соединений на экспериментальных

животных, по данным литературы [7], свидетельствует об изменениях уровня альдегидо- и кетонпроизводных основного характера, при этом отмечают, что отклонение 2,4 ДНФГидразонив основного характера менее выраженными.

В ряде исследований проанализирована роль молекулярных маркеров, ассоциированных со скоростью развития процессов старения [16–20]. В частности, вместо теории оксидативного стресса предлагается более универсальная «Зеленая теория старения».



Показатели окислительной модификации белков основной и группы сравнения

Согласно последней, старение рассматривается как результат макромолекулярных нарушений, вызванных действием различных эндогенных и экзогенных веществ и токсичных продуктов метаболизма, включая влияние и оксидативного стресса, и свободных радикалов, а продолжительность жизни определяется скоростью, с которой токсичные вещества удаляются из организма, и эффективностью исправления повреждений.

Выводы

1. Выявлено, что активность GPO у всех долгожителей составила $(0,329 \pm 0,18)$ мкмоль/(мин·мг), а в группе сравнения $(0,353 \pm 0,17)$ мкмоль/(мин·мг).

2. Доказано, что активность фермента GRD у долгожителей Прикарпатья в 3,17 раза больше по сравнению с лицами зрелого возраста.

3. Установлена тенденция к снижению активности GST у долгожителей $(0,305 \pm 0,31)$ мкмоль/(мин·мг) относительно показателей группы сравнения $(0,345 \pm 0,18)$ мкмоль/(мин·мг).

4. Диагностировано статистически достоверное снижение уровня продуктов ОМБ альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального характера в основной группе относительно сравнительной.

5. Интенсификация процессов ОМБ у долгожителей сопровождалась увеличением альдегидо- и кетонпроизводных ос-

новного характера по сравнению с лицами зрелого возраста.

6. Полученные результаты могут свидетельствовать о лучшем функционировании у долгожителей защитных противорадикальных систем по сравнению с лицами зрелого возраста.

Список литературы

1. Баранов В.С. Геномика старения и предиктивная медицина / В.С. Баранов, О.С. Готов, Е.В. Баранова // Успехи геронтологии. – 2010. – Т. 23, № 3. – С. 329–338.
2. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслягина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 19–21
3. Готов О.С. Генетический полиморфизм, мультифакториальные болезни и долголетие / О.С. Готов, В.С. Баранов // Мед. генетика. – 2007. – Т.6, № 4 (58). – С. 17–29.
4. Губський Ю.І. Вплив унітіолу на окиснювальну модифікацію білків плазми крові та процеси пероксидації ліпідів мембран гепатоцитів щурів за умов інтоксикації хлоридом кадмію / Ю.І. Губський, О.В. Задоріна, Г.М. Ерстенюк, Л.Ф. Осинська // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 2. – С. 70–73.
5. Губський Ю.І. Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях (Огляд літератури) / Ю.І. Губський, І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, Є.Л. Левицький, О.М. Марченко // Современные проблемы токсикологии. – 2004. – № 2. – С. 8–15.
6. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т.41. – № 1 – С. 156–158.
7. Леоненко Н.С. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків в організмі щурів при дії метсульфурон-метилу в малих дозах // Сучасні проблеми токсикології. – 2005. – № 4. – С. 53–57.

8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. проф. М.И. Прохорова. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.

9. Рябов А.Г. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях // А.Г. Рябов, Ю.М. Азидов, И.Н. Пасечник и др. // Вестник интенсивной терапии. – 2002. – № 4. – С. 4–7.

10. Спицын В.А. Экологическая генетика человека // Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Н.П. Бочкова, Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2012. – С. 244–283.

11. Ткачук С.С. Порівняльний аналіз впливу двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан окислювальної модифікації білків у структурах мозку дорослих та старих шурів / С.С. Ткачук, Т.І. Бойчук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 4 (34). – С. 65–69.

12. Эпигенетика. Александр Вайсерман URL: <http://moikompas.ru/compas/avaiserman>.

13. A longitudinal study of the effect of GSTT1 and GSTM1 gene copy number on survival./L. Christiansen, C. Brasch-Andersen, L. Bathum, T.A. Kruse, K. Christensen // Mech Ageing Dev. – 2006. – Vol. 127. – № 7 – P. 597–599.

14. Bolt H. M. Relevance of the Deletion Polymorphisms of the Glutathione S-Transferases GSTT1 and GSTM1 in Pharmacology and Toxicology / Bolt H. M., Thier R. // Current Drug Metabolism. – 2006. – Vol. 7. – P. 613–628.

15. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – № 249(22). – P. 7130–7139.

16. Hallivel B. Neurological and Mental Disorders / B. Hallivel, L. Packer, L. Prilipko // Berlin: Springer Verlag, – 1992. – P. 21–40.

17. Hayes J.D. Glutathione Transferases/Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. // Ann Rev Pharm Toxicol. – 2005. – Vol. 45. – P. 51–88.

18. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations / S. Garte, L. Gaspari, A. Alexandrie [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2001. – Vol. 10. – P. 1239–1248.

19. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes in healthy nonagenarians and centenarians: difference at GSTT1 locus/E. Taioli, D. Mari, C. Franceschi, [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 2001. – Vol. 280. – P. 1389–1392.

20. Wuttge D.M. T-cell recognition of lipid peroxidation products breacs tolerance to self proteins / D.M. Wuttge, M. Bruzelius, S. Stemme // Immunology. – 1999. – Vol. 98, № 2. – P. 273–279.

References

1. Baranov V.S. Genomics aging and predictive medicine, *Advances gerontologists*, 23(3), 2010, 329–338.

2. Vlasova S.N., Shabunina E.I., Pereslyagina I.A. Activity of glutathione dependent enzymes in red blood cells liver Chronic Disease in children, *Lab. delo*, 8, 1990, 19–21.

3. Glotov O.S. Genetic polymorphism, multifactorial disease and longevity, *Medical genetics*, 4(58), 2007, 17–29.

4. Gubskiy U.I. Vpliv unitiolu on okisnyuvalnu modifikatsiyu bilkiv plasmid krovi that processes peroksidatsii lipidiv membranes gepatotsitiv schuriv for minds intoksikatsii chloride kadmiyu, *Modern Problems of Toxicology*, 2008, 2, 70–73.

5. Gubskiy U.I. The main ways of formation of reactive oxygen species in normal and ischemic pathologies (Literature Review), *Modern problems toksykologiyu*, 2, 2004, 8–15.

6. Dubinina E.E. Oxidative modification of proteins of human serum, the method of determining. *Questions med. Chemistry*, 41, 1, 1995, 156–158.

7. Leonenko N.C. Status of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in rats when exposed to metsulfuron-methyl in small doses, *Modern Problems of Toxicology*, 4, 2005, 53–57.

8. Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism), Prokhorov M.I., *Publishing House of Leningrad. University*, 1982, 272.

9. Rybov A.G. Okyslytelnyy stress and intoxication in endohennaya of patients in krytycheskyh Status, *Journal yntensyvnoy therapy*, 4, 2002, 4–7.

10. Spitsin V.A. Ecological genetics of human, hereditary disease: national leadership, ed. N.P. Bochkova, E.K. Ginter, V.P. Puzyreva. Moscow: GEOTAR–Media, 244–283.

11. Tkachuk S.S. Comparative analysis of the impact of bilateral carotid ischemia-reperfusion injury in the state of oxidative modification of proteins in the brain structures of adult and old rats, *Clinical and Experimental Pathology*, IX, 4 (34), 2010, 65–69.

12. URL: <http://moikompas.ru/compas/avaiserman>.

13. L. Christiansen, C. Brasch-Andersen, L. Bathum, T.A. Kruse, K. Christensen A longitudinal study of the effect of GSTT1 and GSTM1 gene copy number on survival, *Mech Ageing Dev*, 127(7), 2006, 597–599.

14. Bolt HM. Relevance of the Deletion Polymorphisms of the Glutathione S-Transferases GSTT1 and GSTM1 in Pharmacology and Toxicology. *Current Drug Metabolism*, 7, 2006, 613–628.

15. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem*, 249(22), 1974, 7130–7139.

16. Hallivel B. Neurological and Mental Disorders, *Berlin: Springer Verlag*, 1992, 21–40.

17. Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. Glutathione Transferases. *Ann Rev Pharm Toxicol*, 45, 2005, 51–88.

18. Garte S. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 10, 2001, 1239–1248.

19. Taioli E., Mari D., Franceschi C. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes in healthy nonagenarians and centenarians: difference at GSTT1 locus. *Biochem Biophys Res Commun*, 280, 2001, 1389–1392.

20. Wuttge D.M. T-cell recognition of lipid peroxidation products breacs tolerance to self proteins, *Immunology*, 98(2), 1999, 273–279.

Рецензенты:

Ковальчук Л.Е., д.м.н., профессор кафедры медицинской биологии и медицинской генетики, ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», г. Ивано-Франковск;

Булык Р.Е., д.м.н., профессор кафедры медицинской биологии, генетики и фармацевтической ботаники Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы.

Работа поступила в редакцию 04.02.2014.