

**СПОСОБ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ФОСФОЛИПИДНЫХ ЗОН,  
ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**Пивоваров Ю.И.<sup>1</sup>, Мухомедзянова С.В.<sup>1</sup>, Дмитриева Л.А.<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Россия;  
<sup>2</sup>Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия)**Резюме.**

**Цель исследования:** апробировать собственный алгоритм обработки хроматограмм фосфолипидов для количественной оценки содержания липидных компонентов в мембране эритроцитов с использованием компьютерной программы «Mathcad 2001 Professional».

**Материал и методы.** В качестве объекта исследования использованы хроматограммы фосфолипидов (фосфотидилхолина и фосфотидилэтаноламина) мембраны эритроцитов, полученные методом тонкослойной хроматографии. Эритроцитарные мембраны инкубировали в физиологическом растворе и растворе этилметилгидроксипиридина сукцината. Элюирование фосфолипидов проводили одноступенчато вертикальным способом. В качестве индикатора служили пары йода.

**Результаты.** Представленная программа даёт возможность оценить различные количественные характеристики хроматограмм фосфолипидов. Смысл предлагаемого алгоритма заключается в выделении и записи каждого из хроматографических пятен отдельным файлом в виде квадратной матрицы и объединении их в графическом редакторе Photoshop. После считывания отсканированных образцов из подготовленных файлов с расширением (.pcx) фосфолипидные пятна подвергаются автоматической обработке в математическом пакете «Mathcad-2001 Professional» для определения площади и/или массы липидных компонентов мембраны эритроцитов с учётом интенсивности тёмно-серых оттенков фосфолипидных пятен. Программой предусмотрено выведение результатов обработки хроматографических пятен не только в цифровом, но и в иллюстрированном вариантах.

**Заключение.** Предлагаемый алгоритм математической обработки хроматограмм может быть успешно применен для количественной оценки содержания липидных компонентов клеточных мембран как в клинических, так и экспериментальных исследованиях.

**Ключевые слова:** мембраны эритроцитов; липиды; тонкослойная хроматография.

**THE METHOD OF MATHEMATICAL PROCESSING OF PHOSPHOLIPID ZONES OBTAINED  
BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY**

Pivovarov Yu.I., Mukhomedzyanova S.V., Dmitrieva L.A.

<sup>1</sup>Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology;  
<sup>2</sup>Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia)**Resume.**

**Aim:** to develop an algorithm for processing phospholipid chromatograms to quantify the content of lipid components in the erythrocyte membrane.

**Methods.** Chromatograms of phospholipids (phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine) of erythrocyte membranes obtained by thin layer chromatography were used as an object of study. Erythrocyte membranes were incubated in physiological solution and Mexidol solution. Elution of phospholipids was performed in a single-step vertical method. Iodine vapor served as an indicator.

**Results.** The presented program makes it possible to evaluate various quantitative characteristics of phospholipid chromatograms. The meaning of the proposed algorithm is to select and record each of the chromatographic spots in a separate file in the form of a square matrix and combine them in the Photoshop graphic editor. After reading-in process, scanned samples of phospholipid spots from prepared files with an extension (.pcx) are automatically processed in the Mathcad-2001 Professional mathematical package to determine the area and/or mass of erythrocyte membrane lipid components taking into account the intensity of dark gray phospholipid spots. The program provides for the export of the results of processing of chromatographic spots not only in digital, but also in illustrated forms.

**Conclusion.** The proposed algorithms for mathematical processing of chromatograms can be used in various aspects of comparative analysis of the content of lipid components of the erythrocyte membrane, both in clinical and experimental studies.

**Key words:** erythrocyte membrane; lipids; thin layer chromatography.

В последние годы, в связи с активным изучением молекулярных механизмов развития патологических состояний на уровне мембранных образований клеток и их ультраструктур значительно усилился интерес к особенностям биологического функционирования фосфолипидов. В биомембранах липидный компонент, организованный в функционально-активную матрицу, интегрирует внешние влияния и участвует в запуске программ клеточного управления [1,5].

В исследовательской практике одно из ведущих мест в качественном и полуколичественном анализе сложных объектов занимает тонкослойная (планарная) хроматография [4,6]. Для количественной оценки содержания липидных компонентов в хроматографических зонах используют различные методы [2,7]. Наиболее часто определение соединений проводится непосредственно

на пластинке методом визуального сравнения размеров площадей пятен и их окраски с соответствующими параметрами пятен стандартных образцов. Метод денситометрии, позволяющий повысить точность результатов, основан на сканировании хроматограмм в видимом и УФ-свете с помощью хроматографических спектрофотометров – денситометров. Сравнительно новым методом для количественной оценки хроматограмм является метод видеоденситометрии. Принцип метода заключается во введении изображения хроматограммы в компьютер с помощью видеокамеры или цифровой камеры с последующим сравнением интенсивности пятен стандартных и определяемых соединений. Однако, отсутствие названных приборов не позволяет с достаточно высокой точностью количественно оценить содержание различных липидных компонентов в зонах,

полученных методом тонкослойной хроматографии.

Цель работы: апробировать собственный алгоритм обработки хроматограмм фосфолипидов для количественной оценки содержания липидных компонентов в мембране эритроцитов с использованием компьютерной программы «Mathcad 2001 Professional».

**Материалы и методы**

В качестве объекта исследования использованы хроматограммы фосфолипидов (фосфотидилхолина и фосфотидилэтаноламина) мембраны эритроцитов, полученные методом тонкослойной хроматографии. Эритроцитарные мембраны инкубировали в физиологическом растворе и растворе этилметилгидроксипиридина сукцината (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат). Элюирование фосфолипидов проводили одноступенчато вертикальным способом. В качестве индикатора служили пары йода.

**Результаты и обсуждение**

Наличие у пользователя системы компьютерной математики «Mathcad 2001 Professional» или других версий с успехом может компенсировать отсутствие названных приборов и позволяет разрабатывать собственные алгоритмы обработки изображений [3]. Эта система математически прозрачна и требует только незначительной подготовки видеоизображения. Она заключается в выделении и записи каждого из хроматографических пятен отдельным файлом, в виде квадратной матрицы ( $n = m$ ), объединении их в графическом редакторе Photoshop и сохранении как самостоятельный файл с расширением .psx. В последующем исследуемые пробы обрабатываются автоматически с учётом некоторой коррекции видеоизображения.

В качестве примера предлагается листинг математической обработки хроматограмм фосфотидилэтаноламина, выделенного из мембран эритроцитов, после их инкубации с физиологическим раствором и раствором этилметилгидроксипиридина сукцината у трёх доноров (рис. 1), а также комментарии к нему. В данном случае элюирование фосфолипида проводилось одноступенчато вертикальным способом. В качестве индикатора служили пары йода.

Листинг. Математическая обработка хроматограмм фосфолипида

1. Определение пути (f) и считывание общего файла хроматограмм – A, (рис. 1a):

```
ORIGIN:= 1      f := "D:\OY\1012.pcx"      A := READ_IMAGE(f)
n := rows(A)    i := 1..n      j := 1..n      M := submatrix
```

2. Формирование матрицы (Q) с индексами строк и столбцов, исследуемых хроматограмм (при другом количестве хроматографических пятен эта матрица долж-

$$P := \begin{pmatrix} 1 & n + 1 & 2n + 1 & 3n + 1 & 4n + 1 & 5n + 1 \\ n & 2n & 3n & 4n & 5n & 6n \end{pmatrix} \quad Q := P^T$$

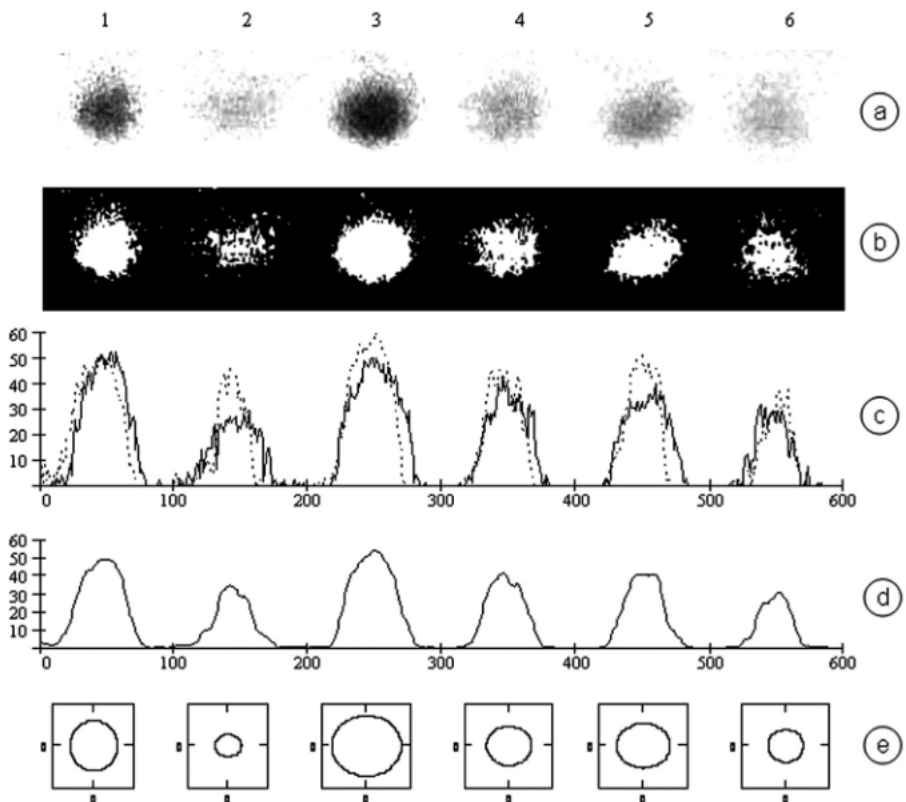


Рис. 1. Нечётные номера пятен фосфолипида – инкубация эритроцитов с физиологическим раствором, чётные – инкубация эритроцитов с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (объяснение в тексте).

на соответствовать их числу):

3. Последовательное выделение исследуемых хроматограмм из общего файла – A с помощью функции submatrix (M):

$$\begin{aligned} Z_1 &:= M(A, 1, n, Q_{1,1}, Q_{1,2}) & Z_2 &:= M(A, 1, n, Q_{2,1}, Q_{2,2}) & Z_3 &:= M(A, 1, n, Q_{3,1}, Q_{3,2}) \\ Z_4 &:= M(A, 1, n, Q_{4,1}, Q_{4,2}) & Z_5 &:= M(A, 1, n, Q_{5,1}, Q_{5,2}) & Z_6 &:= M(A, 1, n, Q_{6,1}, Q_{6,2}) \end{aligned}$$

4. Расчёт среднего числа каждой из матриц  $Z_1-Z_6$  с общим знаменателем – k, величина которого выставлена с учётом выраженности тёмно-серых оттенков фосфолипидных пятен:

$$p := 1..6 \quad k := 1.12 \quad W_p := \text{mean}(Z_p) \div k$$

5. Формирование матриц B1–B6, элементы которых состоят только из максимального кода интенсивности белого цвета – 255 и нулей:

$$\begin{aligned} B_{2,i,j} &:= [(Z_{2,i,j} \leq W_2) \cdot 255] & B_{3,i,j} &:= [(Z_{3,i,j} \leq W_3) \cdot 255] \\ B_{5,i,j} &:= [(Z_{5,i,j} \leq W_5) \cdot 255] & B_{6,i,j} &:= [(Z_{6,i,j} \leq W_6) \cdot 255] \end{aligned}$$

6. Объединение матриц B1–B6 по горизонтали (D), (рис. 1b) и A с D – по вертикали (E):

$$D := \text{augment}(B1, B2, B3, B4, B5, B6) \quad E := \text{stack}(A, D)$$

7. Формирования векторов-тензоров Str и Stb путём суммирования единиц по строкам и столбцам в матрице-тензоре  $B_{i,j}$ . Раздельное объединение  $u^p$  и  $z^p$  возвращает соответственно векторы Y (сплошные линии) и X (пунктирные линии) (рис. 1c), а элементы вектора yu содержат усреднённые данные от суммы элементов векторов Y и X:

$$B_{i,j} := (B1_{i,j} \ B2_{i,j} \ B3_{i,j} \ B4_{i,j} \ B5_{i,j} \ B6_{i,j})$$

$$Str_j := \frac{1}{255} \left( \sum_{i=1}^n B_{i,j} \right) \quad Stb_i := \frac{1}{255} \left( \sum_{j=1}^n B_{i,j} \right) \quad u_{i,p} := \left[ (Str_{i,1})^{(p)} \right]_1 \quad z_{i,p} := \left[ (Stb_{i,1})^{(p)} \right]_1$$

$$Y := stack(u^{(1)}, u^{(2)}, u^{(3)}, u^{(4)}, u^{(5)}, u^{(6)}) \quad X := stack(z^{(1)}, z^{(2)}, z^{(3)}, z^{(4)}, z^{(5)}, z^{(6)}) \quad vy := \frac{Y + X}{2}$$

8. Сглаживание данных вектора –  $vy$  с помощью регрессии отрезками полиномов образует кривую функции  $f(x)$ , которая показана на рис. 1d:

фолипида (рис. 1e):

$$Y(t) = b_p \sin(t) \quad X(t) = a_p \cos(t)$$

$$j := 1..6n \quad vx_j := j \quad x_j := j \quad span := 0.03 \quad r := loess(vx,vy,span) \quad f(x) := interp(r,vx,vy,x)$$

$$x := \min(x), \min(x) + 1.. \max(x)$$

Результаты установленной интегральной площади пятен фосфолипида (в усл. ед.):

9. Определение локализации корней по оси  $x$  ( $r1_p$  и  $r2_p$ ) в начале и в конце каждого из шести отрезков кривой  $f(x)$ . Для того чтобы определить эти корни от функции  $f(x)$  отнимается необходимая величина –  $m$ , в данном случае  $m = 1,0$ :

$$S_1 = 1539 \quad S_2 = 702 \quad S_3 = 2101 \quad S_4 = 1215 \quad S_5 = 1472 \quad S_6 = 938$$

$$r1_p := root\left(f(x) - m, x, Q_{p,1} + 5, Q_{p,2} - \frac{n}{2}\right) \quad r2_p := root\left(f(x) - m, x, Q_{p,2} - \frac{n}{2}, Q_{p,2}\right)$$

Коэффициенты пропорциональности:

$$K1 = -0,544 \quad K2 = -0,422 \quad K3 = -0,363$$

10. Вычисление интегральной площади шести пятен фосфолипида ( $S_p$ ), ограниченных кривой подинтегральной функции  $f(x)$ , осью  $x$  и заданными пределами интегрирования  $r1_p$  и  $r2_p$ :

В случае закрытия вычислительного блока, которое предусмотрено в системе Mathcad, значения  $k$  и  $m$  должны быть выведены за его пределы в виде глобальных переменных.

$$S_p := \int_{r1_p}^{r2_p} f(x) dx$$

Кроме того, при необходимости можно изучить количественную характеристику каждой хроматограммы по уровню интенсивности окраски её пятна. Например, на рис. 2а представлена базовая кривая функции  $f(x)$ , отражающая свойство шестого пятна фосфолипида ( $p$ ), на которой показаны два уровня его дискриминации.

11. Расчёт коэффициентов пропорциональности относительно площади пятен фосфолипида, выявленных при инкубации эритроцитов с физиологическим раствором:

Такая дискриминация определяется элементами вектора –  $q$ , которые выставляются пользователем произвольно под визуальным контролем в зависимости от характера кривой функции  $f(x)$ :

$$K1 := \frac{S_2}{S_1} - 1 \quad K2 := \frac{S_4}{S_3} - 1 \quad K3 := \frac{S_6}{S_5} - 1 \quad p := 6 \quad x := Q_{p,1} \cdot Q_{p,2} \quad q := \begin{pmatrix} 6 \\ 26.5 \end{pmatrix}$$

12. Определение модулей каждого из векторов для установления  $\frac{1}{2}$  длины осей эллипсов  $b$  и  $a$ :

Они, в свою очередь, формируют интервалы  $r1_p$  и  $r2_p$  по оси  $x$ , в рамках которых будет проводиться дискриминация кривой –  $x = 525,4 - 564,6$ , нижний уровень дискриминации:  $f(r1_p)$  (пунктирная линия), а также функцию  $u1(x)$  (рис. 2b):

$$b := \frac{stack(|u^{(1)}|, |u^{(2)}|, |u^{(3)}|, |u^{(4)}|, |u^{(5)}|, |u^{(6)}|)}{2} \quad a := \frac{stack(|z^{(1)}|, |z^{(2)}|, |z^{(3)}|, |z^{(4)}|, |z^{(5)}|, |z^{(6)}|)}{2}$$

13. Параметрические уравнения, с помощью которых могут иллюстрироваться размеры реконструированных пятен фос-

$$r1_p := root\left(f(x) - q_1, x, Q_{p,1} + 5, Q_{p,2} - \frac{n}{2}\right) \quad r2_p := root\left(f(x) - q_1, x, Q_{p,2} - \frac{n}{2}, Q_{p,2}\right)$$

$$u1(x) := f(x) - f(r1_p)$$

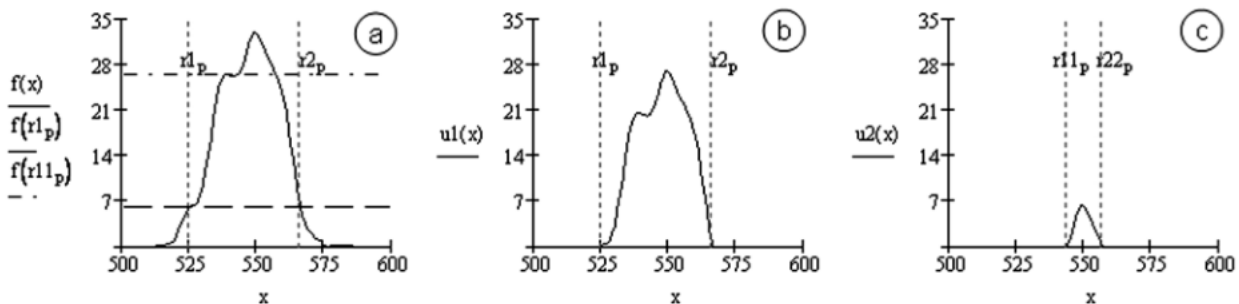


Рис. 2. Базовая кривая функции  $f(x)$ , отражающая свойство шестого пятна фосфолипида ( $p$ ), на которой показаны два уровня его дискриминации.

Следующий уровень дискриминации кривой функции  $f(x)$  определяется  $f(r11_p)$ , найденными интервалами  $r11_p, r22_p$  ( $x = 543,7-557$ ) и функцией  $u2(x)$  (рис. 2с). На рис. 2а – пунктирная линия с точкой:

$$r11_p := \text{root}\left(f(x) - q_{2,x}, Q_{p,1} + 5, Q_{p,2} - \frac{n}{2}\right) \quad r22_p := \text{root}\left(f(x) - q_{2,x}, Q_{p,2} - \frac{n}{2}, Q_{p,2}\right)$$

$$u2(x) := f(x) - f(r11_p)$$

После чего производится интегральное вычисление площади  $S1$  под кривой, показанной на рис. 2с и площади –  $S2$ , заключённой между дискриминирующими линиями. При расчёте  $d2$  и  $d1$  можно определить также площадь основания каждого из выделенных по интенсивности пятен фосфолипида:

$$S := \int_{r1_p}^{r2_p} u1(x) dx \quad S = 652.6 \quad S1 := \int_{r11_p}^{r22_p} u2(x) dx \quad S2 := S - S1$$

$$S1 = 46.3 \quad S2 = 606.3$$

$$d2 = r22_p - r11_p \quad S1 = \pi \left(\frac{d2}{2}\right)^2 \quad d1 = r2_p - r1_p \quad S2 = \pi \left(\frac{d1}{2}\right)^2$$

$$S1 = 138.7 \quad S2 = 1332.3$$

Следовательно, при данных уровнях дискриминации по интенсивности окрашивания 6-го пятна фосфолипида определялись количественные характеристики тёмно-серой ( $S1$ ), серой ( $S2$ ) и светло-серой зон пятна. Площадь последней вычисляется разницей между общей площадью пятна ( $S_p$ ) и  $S$  (в данном случае – 285,4 усл. ед.).

В программе не представлена обработка интенсивности пятна стандарта фосфотидлэтаноламина, которая необходима для оценки количественного содержания исследуемых фосфолипидов. В этом случае в листинг дополнительно вводится файл стандарта и отдельно вычисляется его площадь аналогичным образом, что и у исследуемых пятен фосфолипида – формула (1), где  $x_1, x_2$  являются интервалами подинтегральной функции  $g(x)$ .

Поскольку количество фосфолипида в стандарте известно (0,0103 г/мл), после его пересчёта на один микролитр (mass) вычисляется коэффициент с учётом объёма

вносимого стандарта ( $v$ ). Этот коэффициент умножается на площадь фосфолипидов в исследуемых пробах – формула (2), где  $v1$  – объём вносимых проб на хроматографическую пластинку, и определяется количество фосфолипида в изучаемых пробах:

$$\frac{\text{mass}}{S \div v} \cdot \frac{1}{v1} \left( \int_{r1_p}^{r2_p} f(x) dx \right) \quad (2)$$

При этом следует напомнить, что количественные характеристики как стандартного, так и изучаемых проб фосфолипида будет напрямую зависеть от величины переменной  $k$ , которую пользователь может выставлять вручную в зависимости от стоящей перед ним задачи.

Если пользователь в качестве количественной характеристики пятен фосфолипида предпочтёт использовать площадь эллипса, то эти расчёты следует проводить с помощью формулы:  $S_{элр} = \pi \cdot ar \cdot \beta_r$ . Однако необходимо учитывать тот факт, что показатели площади эллипса будут существенно отличаться от показателей интегральной площади одноимённых пятен, прежде всего потому, что последние являются производной от сглаженных средних величин векторов  $Y$  и  $X$  (см. 7-й и 8-й программные блоки).

Заключение. Таким образом, предлагаемые алгоритмы математической обработки хроматограмм дают возможность использовать их в различных аспектах сравнительного анализа содержания липидных компонентов мембраны эритроцитов, как в клинических, так и экспериментальных исследованиях.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Прозрачность исследования.** Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

**Декларация о финансовых и иных взаимодействиях.** Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Работа поступила в редакцию: 15.05.2019 г.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А.А., Кяйваряйнен Е.И., Илюха В.А. Биомембранология: Учебное пособие. Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.
2. Джавадов А.К., Зулев Г.С., Клепикова Э.А. Определение классов липидов и подклассов фосфолипидов в биологических материалах методом тонкослойной хроматографии с последующей денситометрией // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2016. №1. С.9-14.
3. Кирьянов Д.В. Самоучитель Mathcad 12. СПб.: БХВ-Петербург, 2004. 576 с.
4. Лобаева Т.А. Тонкослойная хроматография липидов, входящих в состав фитопрепаратов на основе жирных растительных масел // Вестник Российского университета Дружбы Народов. Серия: Медицина. 2013. №4. С.20-23.
5. Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Богданова О.В. и др. Липиды биологических мембран в норме и при патологии (обзор литературы) // Acta Biomedica Scientifica. 2017. Т. 2. №5-1. С.43-49.
6. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Углонова В.З., Кулакова Н.В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение: Учебное пособие. Изд. 3-е, доп. Саратов, 2012. 128 с.
7. Demchenko A.P. Modern views on the structure and dynamics of biological membranes // Biopolymers and Cell. 2012. Vol. 28. №1. P.24-38.

REFERENCES

1. Boldyrev A.A., Kyayvaryaynen E.I., Plyukha V.A. Biomembranology: Tutorial. Petrozavodsk: Izd-vo Kar NTs RAN, 2006. 226 p. (in Russian)
2. Dzhavadov A.K., Zulev G.S., Klepikova E.A. Evaluation of classes of lipids and subclasses of phospholipids in biological materials by thin layer chromatography followed by densitometry // Tekhnologiya i tovarovedenie innovatsionnykh pishchevykh produktov. 2016. №1. P.9-14. (in Russian)
3. Kir'yanov D.V. Self-instruction manual on Mathcad 12. St. Petersburg: BKhV-Peterburg, 2004. 576 p. (in Russian)
4. Lobaeva T.A. Thin layer chromatography of lipids that make up phytopreparations based on fatty vegetable oils // Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina. 2013. №4. P.20-23. (in Russian)
5. Mukhomedyanova S.V., Pivovarov Yu.I., Bogdanova O.V., et al. Lipids of biological membranes in health and disease (literature review) // Acta Biomedica Scientifica. 2017. Vol. 2. №5-1. P.43-49. (in Russian)
6. Sumina E.G., Shtykov S.N., Uglanova V.Z., Kulakova N.V. Thin layer chromatography. Theoretical Foundations and Practical Application: Tutorial. Saratov, 2012. 128 p. in Russian.
7. Demchenko A.P. Modern views on the structure and dynamics of biological membranes // Biopolymers and Cell. 2012. Vol. 28. №1. P.24-38.

**Информация об авторах:**

Пивоваров Юрий Иванович – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», SPIN-код: 7221-7606 (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-50; e-mail: iscst@mail.ru); Мухомедзянова Светлана Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-50; e-mail: iscst@mail.ru); Дмитриева Людмила Аркадьевна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», SPIN-код: 8254-7507 (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3908) 666-94-37; e-mail: viclud2009@mail.ru)

**Information about the authors:**

Pivovarov Yuriy I. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Cellular Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, SPIN-code: 7221-7606 (664003, Russia, Irkutsk, Bortsov Revolyutsii str., 1; tel. (3952) 29-03-50; e-mail: iscst@mail.ru); Mukhomedyanova Svetlana V. – Junior Research Officer at the Laboratory of Cellular Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (664003, Russia, Irkutsk, Bortsov Revolyutsii str., 1; tel. (3952) 29-03-50; e-mail: iscst@mail.ru); Dmitrieva Lyudmila A. – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Cellular Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, SPIN-code: 8254-7507 (664003, Russia, Irkutsk, Bortsov Revolyutsii str., 1; tel. (3908) 666-94-37; e-mail: viclud2009@mail.ru)