

КАЛЬЦИЙ КАК ИНГИБИТОР АКТИВНОСТИ ТРИПСИНА В ПАНКРЕАТИЧЕСКОМ СОКЕ КУР

✉ Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Фисинин В.И., Кислова И.В., Овчинникова Н.В.

Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук

Московская область, г. Сергиев Посад, Россия

✉ e-mail: vertiprakhov63@mail.ru

Представлены результаты изучения взаимодействия кальция и панкреатических ферментов у кур кросса Хайсекс белый 46-недельного возраста. Показано, что одновременно с всасыванием в желудочно-кишечном канале птиц происходит эндогенная экскреция кальция с пищеварительными соками. Определено влияние кальция на активность трипсина в эксперименте *in vitro*. В опыте вводили разные дозы кальция (5,0; 7,5; 10,5; 12,5 и 25,0 мг) в панкреатический сок кур, предварительно разведенный физиологическим раствором в 10 раз. Число повторов в каждом варианте опыта 20 раз. Для опыта применяли кальций хлористый 2-водный (ХИММЕД, РФ). Активность трипсина устанавливали кинетическим методом. Содержание кальция определяли биохимическим анализатором Sinnowa BS-3000P (КНР) и набором для определения кальция в крови животных ДИАКОН-ВЕТ (РФ). Установлено, что в панкреатическом соке кур содержится до $2,9 \pm 0,03$ ммоль кальция/л, что сопоставимо с уровнем кальция в сыворотке крови $1,99 \pm 0,10 - 3,13 \pm 0,20$ ммоль/л. Определено, что кальций оказывает ингибирующее влияние на активность трипсина. Увеличение кальция в панкреатическом соке кур в 5 раз снижает активность трипсина на 34,7%. По данным дисперсного анализа, концентрация кальция в панкреатическом соке влияет на активность трипсина, сила влияния фактора достоверна и составляет 92%. Установлена устойчивая отрицательная корреляция между содержанием кальция в панкреатическом соке и активностью трипсина $r = -0.78$, что согласуется с корреляцией соответствующих показателей в крови. Это позволяет рассматривать кальций вместе с протеазами как элемент, регулирующий процессы метаболизма в организме кур.

Ключевые слова: панкреатический сок кур, кальций, трипсин, ингибитор

CALCIUM AS AN INHIBITOR OF TRYPsin ACTIVITY IN PANCREATIC JUICE OF CHICKEN

✉ Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Fisinin V.I., Kislova I.V., Ovchinnikova N.V.

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of the Russian Academy of Sciences

Sergiev Posad, Moscow region, Russia

✉ e-mail: vertiprakhov63@mail.ru

The results of studying the interaction of calcium and pancreatic enzymes in 46-week-old Hisex white chickens are presented. It is shown that intestinal absorption of calcium is accompanied by endogenous excretion of calcium with digestive juices. The effect of calcium on tryptic activity in an *in vitro* experiment was determined. In the experiment, different doses of calcium (5.0; 7.5; 0.5; 12.5 and 25.0 mg) were injected into the pancreatic juice of chickens, previously diluted with physiological solution 10 times. The number of repetitions in each variant of the experiment was 20 times. For the experiment, 2-aqueous calcium chloride (Chimmed, RF) was used. Trypsin activity was determined by the kinetic method. The content of calcium was determined with a Sinnowa BS-3000P biochemical analyzer (China) and a set for the determination of calcium in the blood of animals DIAKON-VET (RF). It was found that pancreatic juice of chickens contains up to 2.9 ± 0.03 mmol of calcium/l, which is comparable to the level of calcium in the blood serum of $1.99 \pm 0.10 - 3.13 \pm 0.20$ mmol/l. The inhibiting effect of calcium on the tryptic activity was found. A five-fold increase in calcium in pancreatic juice of chickens reduces the activity of trypsin by 34.7%. According to

the analysis of variance, the concentration of calcium in pancreatic juice affects tryptic activity, the reliability of the effect is confirmed by 92%. A stable negative correlation was established between calcium content in pancreatic juice and activity of trypsin $r = -0.78$, which is consistent with the correlation of the corresponding parameters in the blood. These findings serve as evidence that calcium together with proteases can be regarded as an element that regulates metabolic processes in chickens.

Keywords: pancreatic juice of chickens, calcium, trypsin, inhibitor

Для цитирования: Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Фисинин В.И., Кислова И.В., Овчинникова Н.В. Кальций как ингибитор активности трипсина в панкреатическом соке кур // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51. № 2. С. 80–86. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-2-10>

For citation: Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Fisinin V.I., Kislova I.V., Ovchinnikova N.V. Calcium as an inhibitor of trypsin activity in pancreatic juice of chicken. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2021, vol. 51, no. 2, pp. 80–86. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-2-10>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Кальций в организме кур играет исключительно важную роль в формировании скелета и скорлупы яиц. Кроме этого, кальций участвует в сокращении мышечных волокон, влияет на автоматию, процессы возбуждения и сокращения сердца, в свертывании крови, активирует ряд ферментов и стабилизирует трипсин панкреатического сока [1]. В организме животных кальций находится в костной ткани, мышцах, биологических жидкостях. Одновременно с всасыванием в желудочно-кишечном канале птиц происходит эндогенная экскреция кальция с пищеварительными соками. Исследованиями установлено, что в панкреатическом соке кур находится до $2,9 \pm 0,03$ ммоль кальция/л, что сопоставимо с уровнем кальция в сыворотке крови – $1,99 \pm 0,10 - 3,13 \pm 0,20$ ммоль/л [2]. Нормы кальция в рационе кур в разные возрастные периоды изменяются с учетом потребности в макроэлементе. При высоком уровне кальция степень его усвояемости несушками снижается как в абсолютном, так и в относительном выражении [3]. Увеличение в рационе несушек кальция выше нормы нецелесообразно. Вместо ожидаемого улучшения качества скорлупы нередко получают обратные результаты. Избыток кальция ингибирует абсорбцию микроэлементов (цинка, марганца, железа, возможно, меди) и ухудшает усвоение растительного

(фитатного) фосфора. Введение чрезмерных количеств кальция в комбикорма (в России обычно в виде мела) ухудшает их вкусовые качества и поедаемость птицей.

Цель исследований – определить влияние кальция на активность трипсина в пищеварительном соке кур в эксперименте *in vitro*.

Задачи исследования – изучить активность трипсина на фоне разных доз кальция в панкреатическом соке кур кросса Хайсекс белый; выполнить дисперсионный анализ влияния количества кальция на активность трипсина панкреатического сока, рассчитать корреляцию между признаками в панкреатическом соке и плазме крови кур.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполняли в условиях лаборатории физиологии Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук в 2020 г. Объект исследования – панкреатический сок, полученный в хронических экспериментах от кур кросса Хайсекс белый 46-недельного возраста, прооперированных по методу Ц.Ж. Батоева [4]. Активность трипсина устанавливали кинетическим методом [5]. Содержание кальция определяли с использованием полуавтоматического биохимического анализатора Sinnova BS-3000P (КНР) и набора для определения кальция в крови

животных компании «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ). Вначале определяли базовую активность трипсина, который находился в панкреатическом соке кур. Для эксперимента предварительно разводили сок физиологическим раствором в 10 раз для того, чтобы его протеолитическая активность соответствовала дуоденальному химусу у кур. Затем вводили в пробирки с соком разные дозы кальция, начиная от 5,0 мг, увеличивая количество минерала на 0,25 мг в каждой следующей пробирке, до 12,5 и 25,0 мг. Для опыта применяли кальций хлористый 2-водный (ХИММЕД, РФ). Исследования активности трипсина в каждой из пробирок с кальцием повторялись не менее 20 раз.

Для статистической обработки результатов использовали программу Excel, с помощью которой выполняли расчет среднего значения (M), среднеквадратичное отклонение ($\pm m$), корреляцию, а также применяли пакет анализа Microsoft Office для выполнения дисперсионного анализа. Достоверность различий устанавливали по t -критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования, полученные *in vitro*, показали, что активность трипсина в панкреатическом соке кур изменяется при добавлении разных доз кальция (см. табл. 1).

Данные таблицы свидетельствуют о том, что кальций оказывает ингибирующее влияние на активность трипсина. Наиболее рез-

кие периоды снижения активности фермента отмечены между первой и второй пробирками (на 17,0%, $p < 0.05$), третьей и четвертой – (на 15,6%, $p < 0.05$). В целом при увеличении кальция в панкреатическом соке кур в 5 раз активность трипсина снижается на 34,7%.

Проведенный дисперсный анализ показал, что между содержанием в панкреатическом соке кальция и активностью трипсина существует связь (см. табл. 2, 3). Сила влияния фактора (количество кальция) достоверна и составляет 92,0%.

Коррелятивный анализ показал, что между содержанием кальция и активностью трипсина в панкреатическом соке кур существует устойчивая обратная связь, коэффициент которой равен минус 0,78.

По результатам биохимического исследования биохимии в крови кур-несушек отмечена устойчивая обратная корреляция между кальцием и активностью трипсина (см. рисунок), $r = -0,51$.

Полученные данные согласуются с результатами исследований А.Г. Михайловой и др. [6] о возможности регуляции с помощью ионов кальция побочного нежелательного гидролиза при использовании энтеропептидазы. Установлены изменения содержания кальция в крови цыплят-бройлеров и их прародителей в онтогенезе, что, возможно, оказывает влияние на метаболизм [7]. Так, у 1-суточных цыплят количество кальция в плазме крови отмечено достаточно низким, но уже в первую неделю постэмбриональной жизни оно повысилось на 38,7%

Табл. 1. Активность трипсина на фоне разных доз кальция в панкреатическом соке кур
Table 1. Trypsin activity depending on the doses of calcium in chicken pancreatic juice

Количество кальция в пробирке, мг/ (ммоль/л)	Активность трипсина, ед./л				
	Первая пробирка	Вторая пробирка	Третья пробирка	Четвертая пробирка	Пятая пробирка
5,0/3,95	124,8 $\pm$ 3,35	103,7 $\pm$ 2,82	100,0 $\pm$ 0,70	84,4 $\pm$ 0,47	81,5 $\pm$ 2,21
7,5/5,87					
10,0/8,07					
12,5/10,30					
25,0/20,38					

Табл. 2. Однофакторный дисперсионный анализ взаимосвязи кальция и трипсина

Table 2. One-way ANOVA of the relationship between calcium and trypsin

Группа	Счет	Сумма	Среднее	Дисперсия
Концентрация кальция	5	1,2	0,24	0,02425
Активность трипсина	10	989,689	98,9689	304,5126677

Табл. 3. Дисперсионный анализ влияния количества кальция на активность трипсина панкреатического сока

Table 3. ANOVA of the influence of calcium amount on the activity of trypsin in pancreatic juice

Источник вариации	Сумма квадратов отклонений (SS)	Степень свободы (Df)	Средний квадрат (Ms)	Критерий фактического распределения (F)	p – значение*	Критерий теоретического распределения (F-критическое)
Между группами	32491,32	1	32491,32	154,1159011	1,38935E-08	4.667192732
Внутри групп	2740,711	13	210,8239			
Итого	35232,03	14				

Сила влияния 92,0%

*Вероятность того, что дисперсия, воспроизводимая уравнением, равна дисперсии остатков.

и оставалось на таком уровне до 35 сут. В плазме крови у 1-суточных цыплят наблюдали высокую активность трипсина, что могло быть связано с выработкой достаточного количества ингибиторов, сдерживающих активность фермента в период эмбриогенеза. К 7-суточному возрасту активность трипсина снижалась у цыплят-бройлеров в 11,8 раза. В дальнейшем наблюдали постепенное снижение этого показателя как в абсолютных величинах, так и относительно живой массы. В целом относительный показатель активности трипсина на единицу живой массы снизился за 35-суточный период исследований у цыплят-бройлеров в 501 раз. Кроме того, ионы кальция являются маркерами состояния поджелудочной железы при ее патологии [8, 9]. Панкреатит является в настоящее время распространенным и тяжелым заболеванием, которое не имеет специфической терапии и характеризуется недостаточно изученным патогенезом. Кальций (Ca(2+)) является универсальным носителем сигналов, регулирующих многие аспекты клеточной активности. Он контролирует

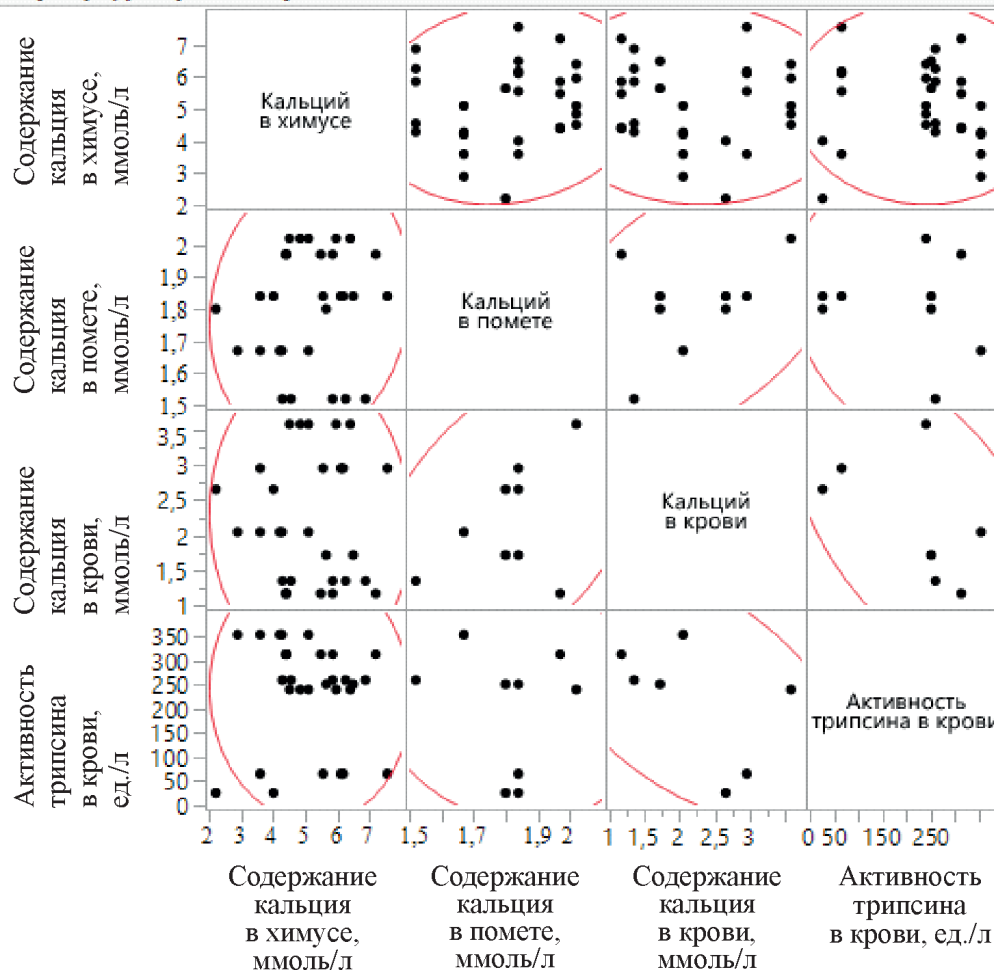
секрецию пищеварительных ферментов в ацинарных клетках поджелудочной железы. Перегрузка Ca(2+) – ключевое раннее событие в патогенезе многих заболеваний. В панкреатических ацинарных клетках патологические ионы кальция Ca(2+) являются ключевым фактором в инициации повреждения клеток. Из-за длительного и постоянного действия Ca(2+) происходит активация трипсина, вакуолизация и некроз, которые имеют решающее значение в развитии панкреатита. Следовательно, при панкреатитах кальций, наоборот, является активатором трипсина, а не его ингибитором, как в нормальных условиях. Исследованиями О. Gryshchenko et al. [10] также установлено, что сигналы Ca(2+) в звездчатых клетках обеспечивают петлю амплификации, способствующую гибели ацинарных клеток. Начальное высвобождение протеаз калликреина и трипсина из умирающих ацинарных клеток может через генерацию брадикинина и активируемые протеазой рецепторы индуцировать Ca(2+), сигналы в звездчатых клетках. Они затем могут повредить

Корреляция между активностью трипсина и кальция в биологических средах кур

Корреляции

	Кальций в химусе	Кальций в помете	Кальций в крови	Активность трипсина в крови
Кальций в химусе	1,0000	0,1267	-0,0420	-0,0413
Кальций в помете	0,1267	1,0000	0,4718	-0,1496
Кальций в крови	-0,0420	0,4718	1,0000	-0,5143
Активность трипсина в крови	-0,0413	-0,1496	-0,5143	1,0000

Матрица диаграммы рассеивания



Корреляция между активностью трипсина и кальцием (Ca) в биологических средах кур (рассчитана в программном обеспечении JMP Trial 14.1.0, производитель SAS Institute, USA Carolina)

Correlation between trypsin activity and calcium (Ca) in biological media of chickens (calculated using JMP Trial 14.1.0 software, manufactured by SAS Institute, USA Carolina)

ацинарные клетки и тем самым вызвать дополнительное высвобождение протеаз [10]. Авторы указывают на возможное участие в этом процессе оксида азота, связь с которым трипсина установлена в исследованиях на птице [11].

Магний – естественный антагонист кальция [12]. Повышение концентрации кальция в крови и его введение в двенадцатиперст-

ную кишку усиливает секрецию всех панкреатических ферментов, что не согласуется с результатами нашего исследования. Однако при хроническом панкреатите концентрация кальция в панкреатическом соке снижается параллельно дебиту ферментов [12]. Магний также выделяется в составе панкреатического сока одновременно с кальцием, что свидетельствует о его важной

роли в секреторном процессе поджелудочной железы. Это подтверждается данными на курах [13].

Таким образом, кальций в опытах *in vitro* в панкреатическом соке кур оказывает ингибирующее влияние на активность трипсина. Проведенный дисперсный анализ показал, что между содержанием в панкреатическом соке кальция и активностью трипсина существует сильная связь, равная 92,0%. При этом наблюдается обратная корреляция, которая характерна для показателей активности трипсина и содержания кальция в крови. Полученные новые знания в вопросах взаимодействия кальция и активности трипсина позволяют сделать предположение о регуляторной функции трипсина и кальция в метаболизме птицы.

ВЫВОДЫ

1. По результатам исследований концентрация кальция в панкреатическом соке птиц влияет на активность трипсина, сила влияния фактора достоверна и составляет 92%.

2. Корреляция между содержанием кальция в панкреатическом соке и активностью трипсина носит устойчивый отрицательный характер с коэффициентом минус 0,78, который согласуется с корреляцией соответствующих признаков в крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Физиология сельскохозяйственных животных // Руководство по физиологии. Л.: Наука, 1978. 233 с.
2. Кислова И.В., Овчинникова Н.В., Кошечкина М.В. Биохимические показатели крови высокопродуктивной птицы при разном содержании кальция в рационе // Птица и птицепродукты. 2021. № 1. С. 45–48. DOI: 10/30975/2073-4999-2020-23-1-45-48.
3. Кошаев И.А. Обеспечение сельскохозяйственной птицы кальцием // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. 2018. № 2 (8). С. 3–8.
4. Батоев Ц.Ж. Физиология пищеварения птиц: монография. Улан-Удэ: издательство

Бурятского государственного университета, 2001. С. 72–81.

5. Вертипрахов В.Г., Грозина А.А. Оценка состояния поджелудочной железы методом определения активности трипсина в крови птицы // Ветеринария. 2018. № 12. С. 51–54. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54.
6. Михайлова А.Г., Лихарева В.В., Прудченко И.А., Руми Л.Д. Эффект ионов кальция на энтропептидазный катализ // Биохимия. 2005. Т. 70. № 10. С. 1367–1375.
7. Егоров И.А., Грозина А.А., Вертипрахов В.Г., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Егорова Т.А., Кошечкина М.В. Возрастные изменения биохимических показателей крови у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 4. С. 820–830. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.820rus.
8. Li J., Zhou R., Zhang J., Li Z.F. Calcium signaling of pancreatic acinar cells in the pathogenesis of pancreatitis // World Journal of Gastroenterology. 2014. Vol. 21. N 20 (43). P. 16146. DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.16146.
9. Raraty M.G.T., Petersen O.H., Sutton R.J., Neoptolemos J.P. Intracellular free ionized calcium in the pathogenesis of acute pancreatitis // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 1999. Vol. 13 (2). P. 241–251. DOI: 10.1053/bega.1999.0022.
10. Gryshchenko O., Gerasimenko J.V., Peng S., Gerasimenko O.V., Petersen O.H. Calcium signalling in the acinar environment of the exocrine pancreas: physiology and pathophysiology // The Journal of Physiology. 2018. Vol. 596. Is. 14. P. 2663–2678. DOI: 10.1113/JP275395.
11. Фисинин В.И., Вертипрахов В.Г., Титов В.Ю., Грозина А.А. Динамика активности пищеварительных ферментов и содержания депонированного оксида азота в плазме крови петушков после кормления // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2018. Т. 104. № 8. С. 976–983.
12. Савустьяненко А.В. К вопросу о хроническом панкреатите: Срез знаний 2011 // Новости медицины и фармации. 2011. № 18 (387). С. 14–15.
13. Грозина А.А. К вопросу о химическом составе панкреатического сока кур // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2019. Вып. 1. С. 146–153.

REFERENCES

1. Physiology of farm animals. *Physiology guidelines*, Leningrad, Nauka Publ., 1978. 233 p. (In Russian).
2. Kislova I.V., Ovchinnikova N.V., Koshcheeva M.V. Biochemical parameters of the blood of a highly productive poultry with different calcium content in the diet. *Ptitsa i ptitseprodukt = Poultry and Poultry Products*, 2021, no. 1, pp. 45–48. (In Russian). DOI: 10/30975/2073-4999-2020-23-1-45-48.
3. Koshchaev I.A. Providing poultry with calcium. *Aktual'nye voprosy sel'skokhozyaistvennoi biologii = Actual Issues in Agricultural Biology*, 2018, no. 2 (8), pp. 3–8. (In Russian).
4. Batoev Ts.Zh. *Physiology of poultry digestion*. Ulan-Ude, Publishing house of Buryat State University, 2001, pp. 72–81. (In Russian).
5. Vertiprakhov V.G., Grozina A.A. Assessment of poultry pancreatic gland condition by determination of trypsin activity in poultry. *Veterinariya*, 2018, no. 12, pp. 51–54. (In Russian). DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54.
6. Mikhailova A.G., Likhareva V.V., Prudchenko I.A., Rumsh L.D. Effect of calcium ions on enteropeptidase catalysis. *Biokhimiya*, 2005, vol. 70, no. 10, pp. 1367–1375. (In Russian).
7. Egorov I.A., Grozina A.A., Vertiprakhov V.G., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Egorova T.A., Koshcheeva M.V. The age dynamics of biochemical blood indices in broiler chicken (*Gallus gallus* L.). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2018, vol. 53, no. 4, pp. 820–830. (In Russian). DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.820rus.
8. Li J., Zhou R., Zhang J., Li Z.F. Calcium signaling of pancreatic acinar cells in the pathogenesis of pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, vol. 21, no. 20 (43), pp. 16146. DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.16146.
9. Raraty M.G.T., Petersen O.H., Sutton R.J., Neoptolemos J.P. Intracellular free ionized calcium in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 1999, vol. 13 (2), pp. 241–251. DOI: 10.1053/bega.1999.0022.
10. Gryshchenko O., Gerasimenko J.V., Peng S., Gerasimenko O.V., Petersen O.H. Calcium signalling in the acinar environment of the exocrine pancreas: physiology and pathophysiology. *The Journal of Physiology*, 2018, vol. 596, is. 14, pp. 2663–2678. DOI: 10.1113/JP275395.
11. Fisinin V.I., Vertiprakhov V.G., Titov V.Yu., Grozina A.A. The postprandial dynamics of activity of the digestive enzymes and concentration of depot of nitric oxide in blood serum of cockerels. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*, 2018, vol. 104, no. 8, pp. 976–983. (In Russian).
12. Savust'yanenko A.V. Chronic pancreatitis: Knowledge base to 2011. *Novosti meditsiny i farmatsii = News of Medicine & Pharmacia*, 2011, no. 18 (387), pp. 14–15. (In Russian).
13. Grozina A.A. On the chemical composition of hens' pancreatic juice. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii = Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*, 2019, is. 1, pp. 146–153. (In Russian).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Вертипрахов В.Г.**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом; **адрес для переписки:** Россия, 141311, Московская область, г. Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10; e-mail: vertiprakhov63@mail.ru

Грозина А.А., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела

Фисинин В.И., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, научный руководитель

Кислова И.В., младший научный сотрудник

Овчинникова Н.В., младший научный сотрудник

AUTHOR INFORMATION

✉ **Vladimir G. Vertiprakhov**, Doctor of Science in Biology, Head Researcher, Head of Dept.; **address:** 10, Ptitsegradskaya St., Sergiev Posad, Moscow Region, 141300, Russia, e-mail: vertiprakhov63@mail.ru

Alena A. Grozina, Candidate of Science in Biology, Lead Researcher

Vladimir I. Fisinin, Doctor of Science in Agriculture, Professor, RAS Academician, Scientific Supervisor

Irina V. Kislova, Junior Researcher

Natalia V. Ovchinnikova, Junior Researcher

Дата поступления статьи / Received by the editors 02.02.2021
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 14.04.2021
Дата публикации / Published 25.05.2021