УДК 619:636.5.082.474:591.3
DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.4.68

ВЛИЯНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МЕТАБОЛИТОВ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ СО СТРЕССОМ У МОЛОДНЯКА КУР

Татьяна Олеговна Азарнова
Дарья Леонидовна Богданова
Максим Иванович Старцев
Марк Семенович Найденский
Сергей Юрьевич Зайцев

Московская государственная академия ветеринарной медицины
и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина

Представлены результаты исследований экспрессии некоторых генов (Timp1, Timp2, Timp3, CAT, OSGIN1, OXSR1), обуславливающих развитие окислительного стресса в организме цыплят, вызванного несовершенством условий процесса искусственной инкубации на фоне воздействия композиции растворов биологически активных веществ (коламин, янтарная кислота и препарат Рибав). Исследования проводили в условиях ФГУП ППЗ «Птичное» на яйцах и цыплятах кур кросса Шейвер белый. Уровень экспрессии генов оценивали по содержанию РНК в клетках. Определение экспрессии генов проводили по двухступенчатой RT-PCR в режиме реального времени. Амплификацию изучаемых генов осуществляли на DTprime5MZ. Реакцию обратной транскрипции проводили, используя набор GenePak, не содержащий случайные гексамеры, но с добавлением специфических праймеров. Доказана возможность стимуляции центральных метаболических процессов вышеуказанными биологически активными веществами: отмечено повышение активности α-амилазы (в 1,2 раза при $p < 0,05$), содержания глюкозы в крови (на 9,1%), величины ПВК (в 1,6 раза при $p < 0,05$), образования пентоз (в 1,4 раза при $p < 0,01$) при действии заявленного стрессора, что обусловлено возможностью оказывать воздействие на экспрессию изучаемых стресс-ассоциированных генов (уменьшение экспрессии TIMP1, TIMP2 и TIMP3 соответственно в 1,16, 1,10 и 1,32 раза и повышение экспрессии генов CAT, OSGIN1 и OXSR1 в 1,11, 1,68 и 1,45 раза в опытной группе по сравнению с контролем). Обусловлена высокая жизнеспособность особей в эмбриональный период, что выразилось в снижении всех категорий отходов инкубации и повышении выводимости яиц и вывода цыплят соответственно на 9,3 и 10,5% по сравнению с контролем, падёж в течение первых 60 суток выращивания снизился в 2 раза.
КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цыплята, экспрессия, витагены, эмбриогенез, антиоксидант, стресс.

THE EFFECT OF NATURAL METABOLITES ON THE ACTIVITY OF SOME STRESS-ASSOCIATED GENES IN YOUNG CHICKENS

Tatyana O. Azarnova
Daria L. Bogdanova
Maxim I. Startsev
Mark S. Naydenskiy
Sergey Y. Zaitsev

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology –
MVA by K.I. Skryabin

The authors present the results of studies of expression of some genes (Timp1, Timp2, Timp3, CAT, OSGIN1, and OXSR1) that promote the development of oxidative stress in chickens caused by imperfect conditions of the artificial incubation process under the exposure to the composition of solutions of biologically active substances (colamine, succinic acid and Ribav). The research was performed in the conditions of the Federal State Unitary Enterprise Ptichnoye Poultry Breeding Factory using the eggs and chickens of the White Shaver cross. The level of gene expression was assessed by the content of RNA in the cells. Determination of gene expression was performed by two-step real-time RT-PCR. Amplification of the studied genes was performed on DTprime5MZ. The reverse transcription reaction was performed using the GenePak kit free from random hexamers, but with added specific primers. Experiments prove the possibility of stimulation of central metabolic processes by the mentioned biologically active substances. There was an increase in the activity of α-amylase (1.2 times at $p < 0.05$), blood

glucose level (by 9.1%), pyruvic acid value (1.6 times at p < 0.05), and pentoses production (1.4 times at p < 0.01) under the action of the claimed stressor, which was due to the possibility of influencing the expression of the studied stress-associated genes (a decrease in the expression of TIMP1, TIMP2 and TIMP3 by 1.16, 1.10 and 1.32 times, respectively; and an increase in the expression of CAT, OSGIN1 and OXSR1 genes by 1.11, 1.68 and 1.45 times in the experimental group compared to control). The authors defined high viability of chickens during the embryonic period, which resulted in a decrease in all categories of incubation waste and an increase in hatchability and hatching rate by 9.3 and 10.5%, respectively, compared to control; mortality within the first 60 days of growing decreased by 2 times.
KEY WORDS: chickens, expression, vitagens, embryogenesis, antioxidant, stress.

Введение

Центральным вопросом современного птицеводства является повышение жизнеспособности и продуктивности кур. Известно, что для этого необходима полноценная реализация генетического потенциала птицы. Однако многообразие, сила и частота неустранимых стрессовых воздействий на эмбрионы в период инкубации исключают эту возможность. В связи с этим становится очевидной необходимость активизации адаптивных возможностей их организма как можно раньше в онтогенезе. Можно предположить, что указанное представляется возможным вследствие повышения или снижения экспрессии определенных стресс-ассоциированных генов, в частности – витагенов, ответственных за выживание организма в критических условиях [9].

Учитывая тот факт, что основным негативным последствием сильного стрессора является чрезмерная активизация свободнорадикальных процессов, особый интерес представляет изучение экспрессии тех из них, которые способны препятствовать развитию этих реакций. Поэтому не менее важно определиться со способами их «включения». В последнее время пристальное внимание многих ученых обращено к новым наукам – нутригеномики, изучающей влияние пищевых веществ на активность генов, а также фармакогеномики, исследующей воздействие фармакологических препаратов на активность генов [9].

Известно, что некоторые естественные метаболиты способны регулировать активность витагенов, тем самым обеспечивая защиту клеток от деструктивных явлений, вызванных активизацией свободнорадикальных реакций в организме эмбрионов [9].

В ряде работ нами были доказаны высокая эффективность композиции коламина, янтарной кислоты и препарата Рибав в профилактике различных стрессовых воздействий, возникающих в период инкубации, а также их антиоксидантные, обменно- и иммуностимулирующие свойства [1]. Однако определенный научный интерес представляет возможность их воздействия на некоторые стресс-ассоциированные гены, в том числе витагены.

В связи с этим проведены исследования с целью выявления возможности влияния на экспрессию некоторых стресс-ассоциированных генов, в том числе витагенов, с помощью композиции растворов БАВ (коламин, янтарная кислота, препарат Рибав).

Мотивация к выбору составляющих композиции была следующей.

Коламин является компонентом некоторых разновидностей плазмалогенов, а также кефалинов, последние при необходимости могут превращаться в присутствии метилтрансферазы в лецитины [2]. Данные фосфолипиды являются основными структурными единицами каркаса клеточных мембран, подвергающиеся деструктивным явлениям вследствие действия чрезмерного количества свободных радикалов [5, 8]. Кроме того, этаноламин, превращаясь в холин, может через ФАД поддерживать работу митохондриальной дыхательной цепи [3]. В свою очередь, янтарная кислота – участник цикла Кребса (цикл трикарбоновых кислот – ЦТК), биологического окисления, многих синтетических процессов (например, синтеза гема). Препарат Рибав является прежде всего источником незаменимых и заменимых аминокислот [6], которые, в свою очередь, участвуют в огромном многообразии реакций в организме сельскохозяйственной птицы (в том числе в биологическом окислении). Многие из них при необходимости

могут преобразоваться в пируват и далее поддерживать интенсивность ЦТК. Кроме того, они необходимы для построения белков, ферментов, гормонов и многих других жизненно важных соединений [1, 3, 6].

Материалы и методы

Исследования проводили в условиях ФГУП ППЗ «Птичное» на яйцах и цыплятах кур кросса Шейвер белый. Опытную партию при соблюдении ряда условий орошали композицией изучаемых БАВ перед инкубацией в оптимальных концентрациях, выявленных в серии предшествующих экспериментов, контрольную группу обработке препаратами не подвергали [1]. В каждую партию подбирали по 306 яиц по принципу аналогов: с учетом возраста родительского стада, времени снесения, сроков хранения, массы.

Забор крови у цыплят осуществляли во время контрольных убоев, спустя сутки после вывода.

Уровень экспрессии генов оценивали по содержанию РНК в клетках. Определение экспрессии генов проводили по двухступенчатой RT-PCR в режиме реального времени. Амплификацию изучаемых генов осуществляли на DTprime5MZ.

Реакцию обратной транскрипции проводили, используя набор GenePak, не содержащий случайные гексамеры, но с добавлением специфических праймеров.

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет программ Statistica 7.0.

Результаты и их обсуждение

Как известно, адаптация организма к стрессу неминуемо влечет за собой повышение или понижение экспрессии генов, отвечающих за то или иное изменение в клетках на молекулярном уровне [9]. В проведенных исследованиях выявлено влияние изучаемой композиции на активность стресс-ассоциированных генов (табл. 1).

Таблица 1. Влияние естественных метаболитов на экспрессию генов у суточных цыплят (n = 5)

Ген	Описание гена	Контрольная группа	Опытная группа (экспрессия генов)
Timp1	Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases 1	1	1,16↓
Timp2	Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases 2	1	1,1↓
Timp3	Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases 3	1	1,32↓
CAT	Catalase	1	1,11↑
OSGIN1	Oxidative Stress Induced Growth Inhibitor 1	1	1,68↑
OXSR1	Oxidative Stress Responsive 1	1	1,45↑

Примечание: в таблице приведены данные об изменении уровней экспрессии генов по сравнению с контрольной группой (медиана величины экспрессии гена в контрольной группе была взята за 1). Цифры обозначают кратность изменения экспериментальных данных по отношению к контролю; «↓» и «↑» – соответственно снижение и увеличение содержания мРНК генов

Рядом ученых доказано, что ген TIMP1 может активизировать апоптоз клеток в организме птиц при сильном окислительном стрессе в широком диапазоне типов клеток различных тканей и систем органов, в частности нервной и сердечно-сосудистой [12, 13].

Кроме того, TIMP1 ингибирует ряд протеиназ, которые необходимы для жизнедеятельности организма, а также образует комплексы с металлопротеиназами (например, коллагеназой) и инактивирует их, необратимо связываясь с каталитическим цинком кофактора [10, 13].

Из данных таблицы 1 следует, что у особей опытной группы произошло уменьшение экспрессии TIMP1 в 1,16 раза. Это свидетельствует о возможности препаратов препятствовать клеточной деструкции, обуславливая более совершенные процессы адаптации организма эмбрионов кур и молодняка суточного возраста в условиях искусственной инкубации.

Кроме того, доказано, что белок, кодируемый геном TIMP2, является естественным ингибитором матриксных металлопротеиназ, а также напрямую подавляет проли-

ферацию эндотелиальных клеток. В опытной группе уменьшение экспрессии этого гена в 1,1 раза показывает, что препарат препятствует экспрессии данного гена, что является позитивным фактором, так как и ген TIMP1, и ген TIMP2 ингибируют метаболические процессы в организме [10, 13].

Как известно, экспрессия TIMP3 обусловлена активизацией свободнорадикальных процессов и приводит к глубоким нарушениям интенсивности метаболизма, деструктивным изменениям структур мембран и органелл клетки и, как следствие, к снижению не только ее жизнеспособности, но зачастую целого организма [4]. Так, относительно контроля в опытной группе установлено снижение экспрессии TIMP3 в 1,32 раза, что, очевидно, свидетельствует об активизации обменных процессов в организме молодняка суточного возраста (указанное подтверждено нашими исследованиями (табл. 2). В частности установлено стимулирующее влияние исследуемых БАВ на белковый обмен: содержание общего белка в сыворотке крови цыплят опытной группы возросло на 8,4% ($p < 0,05$).

Таблица 2. Биохимические показатели крови, плазмы и сыворотки крови цыплят в суточном возрасте (n = 5)

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Общий белок, г/л	32,3 ± 1,42	35,0 ± 0,7*
Альбумин, г/л	10,01 ± 0,38	11,9 ± 0,15**
α-амилаза, Е/л	1080 ± 92,7	1242 ± 51,12*
Глюкоза, ммоль/л	9,36 ± 0,08	10,21 ± 0,16
ЛДГ, Е/л	216 ± 32,95	270 ± 21,51
Пентозы, ммоль/л	0,14 ± 0,01	0,20 ± 0,01**
ПВК, ммоль/л	0,09 ± 0,01	0,14 ± 0,01*
Общие липиды, г/л	1,450 ± 0,014	1,564 ± 0,03***
Липаза, Е/л	6,0 ± 0,71	8,0 ± 0,84
Фосфатидилхолин, ммоль/л	2,1 ± 0,13	2,7 ± 0,13*
Лизоцим, мкг/мл	35,7 ± 0,4	38,7 ± 0,75**

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Кроме того, прослеживаются закономерности активизации углеводного обмена, что выразилось в повышении активности α-амилазы в 1,2 раза ($p < 0,05$), содержания глюкозы в крови на 9,1%. Увеличение ПВК в 1,6 раза ($p < 0,05$) на фоне незначительных изменений ЛДГ свидетельствует об активизации как анаэробного, так и главенствующего аэробного гликолиза. Содержание пентоз возросло в 1,4 раза ($p < 0,01$), что обусловило более тесную, функциональную взаимосвязь между обменами – углеводным, белковым и нуклеиновых кислот. Очевидно, что такая взаимосвязь может в определенной степени «поддерживать» организм в дальнейшем при стрессовых ситуациях, обуславливая возможность компенсаторных функций каждого из обменов, что необходимо для повышения адаптационных возможностей организма.

Также установлена активизация фосфолипидного обмена, видимо, за счет трансформации кефалинов в лецитины или коламина в холин и далее также в лецитины, что выразилось в увеличении последних в 1,3 раза относительно контроля ($p < 0,05$).

Оптимизация обменных процессов определила повышение естественной резистентности организма цыплят, о чем также свидетельствовало увеличение лизоцимной активности сыворотки крови на 8,4% ($p < 0,01$).

Зафиксированная интенсивность метаболизма, очевидно, являлась оптимальной для данных особей, так как выводимость яиц и вывод цыплят превосходили контрольную группу соответственно на 9,3 и 10,5%, падеж в течение первых 60 суток выращивания (охватывающий основные критические периоды постнатального развития молодняка кур) снизился в 2 раза.

Следует отметить, что более высокий уровень метаболических процессов, установленный у особей опытной группы, по данным В.М. Орлова, является важным аспектом, позволяющим сделать благоприятный прогноз более высокой продуктивности кур в дальнейшем онтогенезе [7].

Как известно, ген CAT кодирует синтез каталазы, ключевого антиоксидантного фермента защиты от окислительного стресса. Продукт экспрессии гена CAT является энзимом, который присутствует в пероксисомах практически всех аэробных клеток [15] (табл. 1).

Известно, что каталаза является центральным звеном ферментативной антиоксидантной защитной системы организма, способным непосредственно препятствовать разрушению клеток, активизируя разложение перекиси водорода до воды и молекулярного кислорода.

Так, в опытной группе экспрессия гена повышается в 1,11 раза по сравнению с контролем. Известно, что понижение экспрессии генов CAT приводит к повреждению клеток АФК с последующей их гибелью [15]. Таким образом, можно утверждать, что в опытной группе особи обладают более высокими антиоксидантными возможностями.

Одной из главных функций гена OSGIN1 является синтез белка, регулирующего клеточную смерть [13]. Учитывая это, можно утверждать, что повышение экспрессии гена OSGIN1 в 1,68 раза в опытной группе обусловило повышение адаптационных возможностей клеток, что позволило препятствовать свободно-радикальным реакциям «атаковать» организм.

Продукт гена OXSR1 принадлежит к треониновой протеинкиназе семейства белков. Он регулирует синтез некоторых киназ в ответ на средовой стресс (изменение температуры, хранение яиц, газация). Также ген OXSR1связан с протеинкиназами, которые регулируют содержание натрия и калия в клетках, контролируя пропускную способность мембран [8, 14].

Принимая во внимание тот факт, что в опытной группе произошло увеличение экспрессии гена OXSR1 в 1,45 раза, можно утверждать, что ее представители обладают более совершенными механизмами адаптации, а значит, более устойчивы к действию стрессоров, в том числе средовых, которые нередко сопровождают промышленную инкубацию.

Таким образом, можно сделать вывод, что предложенная комбинация препаратов способна оказывать влияние на активность стресс-ассоциированных генов, в том числе витагенов, осуществляя позитивное воздействие на становление механизмов адаптации организма эмбрионов и молодняка кур, что позволяет успешно реализовать потенциал птицы: повысить жизнеспособность (в том числе в основные критические периоды онтогенеза) и прогнозировать ее более высокую продуктивность в дальнейшем.

Библиографический список

1. Азарнова Т.О. Научно-практические аспекты профилактики оксидативного стресса как способа оптимизации условий инкубации и акселерации эмбрионов кур : дис. ... д-ра биол. наук : 06.02.05 / Т.О. Азарнова. – Москва, 2013. – 310 с.

2. Березов Т.Т. Биологическая химия : учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – Москва : Медицина, 1998. – 704 с.

3. Биохимия человека : учебник : в 2 т. / Р.К. Марри, Д.К. Греннер, П.А. Мейес, В. Родуэлл ; перевод с англ. В.В. Борисова и Е.В. Дайниченко / под ред. Л.М. Гинодмана. – Т. 1. – Москва : Мир, 2009. – 384 с.

4. Бондарь И.А. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы в развитии фиброза почек при сахарном диабете / И.А. Бондарь, В.В. Климонтов // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 1. – С. 39–42.

5. Костанди О.Х. Повышение резистентности цыплят яичных кроссов путем обработки инкубационных яиц органическими кислотами : дис. … канд. биол. наук : 06.02.05 / О.Х. Костанди. – Москва, 2000. – 150 с.

6. Новый регулятор роста растений рибав-экстра / Э.Н. Рязин, Т.Г. Михеева, Н.А. Толмачева, Д.Д. Орловский // Средства защиты растений, регуляторы роста, агрохимикаты и их применение при возделывании сельскохозяйственных культур : сб. науч. тр. – Москва : ВНИИА, 2005. – С. 56–58.

7. Орлов М.В. Биологический контроль в инкубации : учеб. пособие / М.В. Орлов. – Москва : Россельхозиздат, 1987. – 224 с.

8. Саенко Ю.В. Роль оксидативного стресса в патологии сердечно-сосудистой системы у больных с заболеваниями почек / Ю.В. Саенко, А.М. Шутов // Нефрология и диализ. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 43–45.

9. Сурай П.Ф. Современные методы борьбы со стрессами в птицеводстве: от антиоксидантов к сиртуинам и витагенам / П.Ф. Сурай, В.И. Фисинин // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве : матер. XVII Международной конференции ВНАП. 15-17 мая 2012 г., г. Сергиев Посад. – Сергиев Посад : Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, 2012. – С. 24–34.

10. Экспрессия генов матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в тканях опухолей у больных раком гортани и гортаноглотки / Е.В. Малахова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – № 1. – С. 36–39.

11. Activation of the thiazide-sensitive Na+-Cl- cotransporter by the WNK-regulated kinases SPAK and OSR1 / C. Richardson, F.H. Rafiqi, H.K. Karlsson, N. Moleleki, A. Vandewalle, D.G. Campbell, N.A. Morrice, D.R. Alessi // J Cell Sci. – 2008. – Vol. 121 (5). – P. 675–684.

12. Elements of the nitric oxide pathway can degrade TIMP-1 and increase gelatinase activity / D.J. Brown, B. Lin, M. Chwa, S.R. Atilano, D.W. Kim, M.C. Kenney // Mol. Vis. – 2004. – Vol. 10. – P. 281–288.

13. Wollmer M.A. Genetic polymorphisms and cerebrospinal fluid levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in sporadic Alzheimer's disease / M.A. Wollmer, A. Papassotiropoulos, J.R. Streffer, L. M. Grimaldi et al. // Psychiatric Genetics. – 2002. – Vol. 12, Issue 3. – P. 155–160.

14. Genomic structure of human OKL38 gene and its differential expression in kidney carcinogenesis / C.K. Ong, C.Y. Ng, C. Leong, C. P. Ng, K.T. Foo, P.H. Tan, H.Huynh// J Biol Chem. – 2004. – Vol. 279 (1). – P. 743–754.

15. Vulnerability of the human airway epithelium to hyperoxia. Constitutive expression of the catalase gene in human bronchial epithelial cells despite oxidant stress / J.H. Yoo, S.C. Erzurum, J.G. Hay, P. Lemarchand, R.G. Crystal // J Clin Invest. – 1994. – Vol. 93 (1). – P. 297–302.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Принадлежность к организации

Татьяна Олеговна Азарнова – доктор биологических наук, доцент кафедры химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Российская Федерация, г. Москва, E-mail: Azarena@list.ru.

Дарья Леонидовна Богданова – студент 5 курса факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Российская Федерация, г. Москва, E-mail: d-bogdanova96@mail.ru.

Максим Иванович Старцев – аспирант кафедры химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Российская Федерация, г. Москва, E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru.

Марк Семенович Найденский – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Российская Федерация, г. Москва, E-mail: zoo-kafedra@y andex.ru.

Сергей Юрьевич Зайцев – доктор химических наук, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Российская Федерация, г. Москва, E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru.

Дата поступления в редакцию 16.09.2017 Дата принятия к печати 30.10.2017

AUTHOR CREDENTIALS
Affiliations

Tatiana O. Azarnova – Doctor of Biological Sciences, Docent, the Dept. of Chemistry n. a. Professors S.I. Afonsky, A.G. Malakhov, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin, Russian Federation, Moscow, E-mail: Azarena@list.ru.

Darya L. Bogdanova – Student, Faculty of Veterinary Medicine, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin, Russian Federation, Moscow, E-mail: d-bogdanova96@mail.ru.

Maxim I. Startsev – Post-graduate Student, the Dept. of Chemistry n. a. Professors S.I. Afonsky, A.G. Malakhov, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin, Russian Federation, Moscow, E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru.

Mark S. Naidensky – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, the Dept. of Zoological Hygiene and Poultry Science n. a. A.K. Danilova, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin, Russian Federation, Moscow, E-mail: kaf_zoogigieny_fzta@mgavm.ru.

Sergey Yu. Zaitsev – Doctor of Chemical Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Dept. of Chemistry n. a. Professors S.I. Afonsky, A.G. Malakhov, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K.I. Skryabin, Russian Federation, Moscow, E-mail: s.y.zaitsev@mail.ru.

Date of receipt 16.09.2017 Date of admittance 30.10.2017