

ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЕРГЕННОСТІ ТА ІМУНОТРОПНОСТІ БІОКОМПОЗИТНОЇ СУМІШІ

Грушка О.І., Туркіна В.А., Призиглей Г.В.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького м. Львів, Україна

Анотація. У сучасному землеробстві важливим напрямком збереження ґрунтів є використання мікробіологічних препаратів, виробництво яких постійно збільшується. Це породжує питання можливої дії препаратів на імунну систему та алергізації працівників. Проведено експериментальне вивчення алергенної та імунотоксичної дії біокомполітної суміші, як яскравого представника біопрепаратів. Отримані результати дозволяють стверджувати, що біокомполітна суміш викликає незначні порушення імунологічного гомеостазу у експериментальних тварин. Показники неспецифічного клітинного компоненту імунної системи суттєво не змінилися. Виявлена здатність препарату до індукції реакції гіперчутливості сповільненого типу, що свідчить про можливу алергізацію організму по комплементзалежному типу.

***Ключові слова:** суміш біокомполітна, алергенність, імунотоксичність, реакція гіперчутливості сповільненого типу.*

Вступ. В умовах, коли землеробство України постійно стикається із виснаженням ґрунтів, зменшенням кількості гумусу широке застосування біопрепаратів є істотним ресурсом підвищення продуктивності рослинництва. Одним з перспективних напрямів біотехнології є розробка мікробіологічних препаратів, використання яких спрямовано на збереження ґрунтів [1]. Використання бактеріальних добрив в системі органічного (біологічного) землеробства дозволяє підвищити родючість ґрунту, збільшити врожайність сільськогосподарських культур, оздоровити навколишнє середовище. Мікробні препарати виготовляють на основі різних мікроорганізмів та ендомікоризних грибів [2, 3]. Встановлено, що застосування біопрепаратів впливає на мікробіологічну активність ґрунту. Мікробні препарати фосформобілізуєчих бактерій сприяють перетворенню важкорозчинних фосфатів ґрунту в легкорозчинні, більш доступні рослинам форми. До них відносяться актиноміцети, спороутворюючі бактерії, представники неспорозносних бактерій родів *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Alcaligenes* [4]. В процесі створення екологічно збалансованого сільськогосподарського виробництва важливу роль відіграють мікробіологічні засоби захисту рослин від хвороб та шкідників. Відомо, що серед азотфіксуєчих та фосфатмобілізуєчих мікроорганізмів, на основі яких створено бактеріальні добрива, багато штамів є антагоністами фітопатогенної мікрофлорим [5].

Перелік біопрепаратів – біотрансформаторів ґрунту, створених вітчизняними мікробіологами, останніми роками значно розширився. Одним з таких представлених на ринку препаратів є суміш біокомпозитна (біокомпозит) виробництва ТОВ «ЦЕРЕРА ХІМАГРО», що застосовується в сільському господарстві для розкислення, регенерації та рекультивации ґрунту.

Водночас, активне впровадження мікробних препаратів породжує питання безпеки контактуючого контингенту. Зокрема для мікробних препаратів побутового призначення встановлено наявність алергізуючого потенціалу [6].

Мета. Проведення експериментального вивчення алергенної та імунотоксичної дії біокомпозитної суміші.

Матеріали та методи дослідження. Біокомпозит є сумішшю штамів мікроорганізмів *Bradyrhizobium japonicum*, *Streptomyces avermitilis*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma viride* (lignorum), *Bacillus subtilis* та продуктів їх метаболізму.

Встановлення алергенних властивостей суміші біокомпозитної проводили на базі ЦНДЛ та лабораторії промислової токсикології ЛНМУ імені Данила Галицького.

Експериментальна робота проведена на 20 мурчаків-самців білої масті віком 3-3,5 місяці і масою тіла 280-350 г, які утримувались в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експериментальні тварини отримували стандартний гранульований корм з необмеженим доступом до питної води. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” [7] та “Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах” [8].

Дослідження проводили згідно методичних вказівок “Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы” [9]. В експерименті було використано дві групи мурчаків (по 10 тварин кожна) світлої масті. Тварин розділили на 2 підгрупи (контрольна і дослідна) по 10 особин. Мурчаків сенсibiliзували за методом О.Г. Алексєєвої, А.І. Петкевич [10] шляхом внутрішньошкірного введення 200 мкг нативного препарату, розведеного в 0,02 мл розчинника (фізіологічний розчин), в шкіру зовнішньої поверхні вуха тварини. Контрольним тваринам вводили по 0,02 мл розчинника. Через 10 діб додатково наносили 20 аплікацій з суміші біокомпозитної на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба. Реакцію організму оцінювали шляхом візуального огляду поверхні шкіри (діаметр еритеми, інфільтрат чи набряк в місці інокуляції

або генералізований) на місці введення проб через 20-30 хв., 4-5 год та 24 год після введення та за результатами клінічних і алергічних тестів.

Визначали зміни показників периферійної крові (лейкоцитів та лейкоцитарну формулу) [11]. На основі лейкоцитарної формули проводили обчислення співвідношення окремих популяцій лейкоцитів, які можуть бути використані в якості загальної характеристики клітинних реакцій неспецифічного і специфічного захисту організму. Вираховували гематологічні індекси: індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ), що вказує на наявність взаємодії ефекторної та афекторної ланок імунної відповіді; індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ), що характеризують роль кожного компонента мікрофагальної та макрофагальної системи захисту організму [12].

Ступінь сенсibiliзації встановлювали в алерготестах для препарату в розведеннях: 1:10, 1:100 [13]:

реакція специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ), яка основана на зміні сенсibiliзованих клітин при дії специфічного алергену і зв'язана з включенням комплементу в реалізацію формування імунного комплексу на поверхні клітин, який призводить до їх пошкодження і лізису;

реакція специфічної агрегації лейкоцитів (РСАЛ) базується на ефекті посилення склеювання клітин крові при додаванні до неї специфічного алергену, що є однією з перших фаз специфічної алергенної реакції клітин крові.

Стан неспецифічної резистентності організму вивчали за фагоцитарним індексом (ФІ) — відсотком нейтрофілів, які приймають участь у процесі фагоцитозу; фагоцитарним числом (ФЧ) — кількістю часточок полістиролового латексу, поглинутих одним фагоцитом. Для визначення фагоцитарної активності нейтрофілів в лунку пластикової планшетки вносили 0,5 мл крові, 0,5 мл суспензії полістиролового латексу і перемішували. Після 30-хвилинної інкубації при 37 °С пробірки центрифугували. З осаду готували мазки, висушували на повітрі не менше однієї години, фіксували і забарвлювали. Під світловим мікроскопом підраховували 200 нейтрофілів, визначали відсоток клітин, які вміщують гранули латексу (фагоцитарний індекс) та середню кількість гранул латексу в одному фагоциті (фагоцитарне число) [13].

Стан імунологічної реактивності організму оцінювали за відносним та абсолютним вмістом в периферійній крові субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів за допомогою реакції розеткоутворення з еритроцитами, на яких адсорбовані моноклональні антитіла проти рецепторів CD₃ (Т-лімфоцитів), CD₄ (Т-хелпери), CD₈ (Т-цитотоксичні), CD₁₆ (натуральні кілери), CD₂₂ (В-лімфоцити). Дослідження проводили з використанням діагностиків еритроцитарних (виробництва ТОВ НВЛ "Гранум", Україна, м. Харків).

Також розраховували імунорегуляторний (відношення СД4/СД8), ЛТІ-лейко-Т-клітинний та ЛВІ-лейко-В-клітинний індекси.

Гуморальний імунітет вивчали за вмістом імуноглобулінів Е (IgE), А(IgA), М (IgM), G (IgG) та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Вміст імуноглобулінів в сироватці крові визначали на імуноферментному аналізаторі „STAT FAX PLUS– 303” за інструкцією тест-систем виробництва ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, циркулюючі імунні комплекси - методом, який ґрунтується на преципітації високоглобулярних імунних комплексів крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з наступним вимірюванням результатів спектрофотометричним методом [14].

Отримані дані виражали у відсотках і в абсолютних одиницях у перерахунку на 1 літр крові (10^9 /л). Достовірність отриманих змін оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. У сенсibilізованих біокомполітною сумішшю тварин достовірних змін порівняно з контрольною групою у лейкоформулі не виявлено (табл. 1).

Таблиця 1

Показники периферичної крові білих мурчаків-самців після комплексної сенсibilізації біокомполітною сумішшю

Показники	Кількість тварин	Контрольні тварини	Сенсibilізовані тварини	T emp
Лейкоцити, 10^9 /л	20	14,98±1,49	15,26±2,34	0,3
Базофіли, %	20	0,2±0,12	0,30±0,18	0,5
Базофіли, 10^9 /л	20	0,027±0,017	0,053±0,026	0,7
Еозинофіли, %	20	2,10±0,74	2,0±0,67	0,3
Еозинофіли, 10^9 /л	20	0,310±0,098	0,320±0,15	0,2
Нейтрофіли, %	20	16,10±2,88	17,40±3,53	0,9
Нейтрофіли, 10^9 /л	20	2,54±0,78	2,66±0,68	0,4
Моноцити, %	20	3,10±0,99	3,40±1,07	0,7
Моноцити, 10^9 /л	20	0,460±0,14	0,480±0,20	0,3
Лімфоцити, %	20	78,50±3,53	76,90±4,41	0,9
Лімфоцити, 10^9 /л	20	11,78±1,57	11,71±1,72	0,1

*t - коефіцієнт Ст"юдента, при $t > 2,8$ достовірні зміни ($p < 0,05$).

Індекси співвідношення окремих популяцій лейкоцитів також не мали достовірних змін у експериментальній групі порівняно з контрольною групою тварин (табл. 2). Отже, у дослідних тварин утримувався баланс між показниками неспецифічного та специфічного захисту, афекторної та ефекторної ланками імунної відповіді та компонентами мікрофагально-макрофагальної систем імунітету.

Встановлено, що при розведенні 1:10 показник реакції специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ) достовірно збільшився порівняно з контролем на 38,00 % та показник реакції

специфічної агломерації лейкоцитів (РСАЛ) недостовірно збільшився на 4,3 %, що вказує на можливу алергізацію організму по комплементзалежному типу.

Таблиця 2

**Зміни гематологічних індексів у мурчаків, сенсibilізованих
біокомполитною сумішшю**

Назва показників	Значення показників, М±m		
	Контрольні тварини	Сенсibilізовані тварини	t
ІСЛМ	27,93±9,22	27,91±9,36	0
ІСНМ	5,99±2,49	6,62±3,76	0,4
ІСНЕ	9,165±4,29	10,06±4,87	0,4

*t - коефіцієнт Ст'юдента, при $t > 2,8$ достовірні зміни ($p < 0,05$).

Серед досліджених показників клітинного імунітету у тварин експериментальної та контрольної груп достовірних змін не виявлено, але спостерігається тенденція до помірному зростання СД4 як в процентному так і в абсолютному вмісті відповідно на 8,9 % і на 7,3 %. Також відмічається зниження вмісту СД8 на 25 % в процентному і на 24 % в абсолютному вмісті. Імунорегуляторний індекс у сенсibilізованих тварин збільшився на 42,10 % порівняно з контролем. Водночас, значення лейко-Т-клітинного та лейко-В-клітинного індексів у сенсibilізованих тварин незначно зростали на 4,10 % та 4,5 % відповідно порівняно з контролем (табл. 3).

Таблиця 3

**Показники клітинного та гуморального імунітету мурчаків сенсibilізованих
біокомполитною сумішшю**

Показники	Контроль	Дослід	t емп
Клітинний імунітет:			
СД3, %	58,80±8,04	57,30±6,33	0,5
СД3, 10 ⁹ /л	6,94±1,31	6,69±1,03	0,5
СД4, %	38,20±7,80	41,60±6,57	1,10
СД4, 10 ⁹ /л	4,53±1,13	4,86±0,95	0,7
СД8, %	20,60±5,34	15,50±3,17	2,6
СД8, 10 ⁹ /л	2,42±0,67	1,84±0,43	2,3
СД16, %	12,90±2,38	13,2±1,55	0,3
СД16, 10 ⁹ /л	1,52±0,35	1,54±0,23	0,2
СД22, %	17,20±2,39	16,7±2,00	0,5
СД22, 10 ⁹ /л	2,0,1±0,30	1,95±0,33	0,4
ІРІ (імунорегул. індекс)	1,97±0,63	2,80±0,75	2,7
Індекси:			
ЛТІ	2,21±0,30	2,30±0,27	0,7
ЛВІ	7,55±1,03	7,89±0,95	0,8
Фагоцитоз:			

Продовження таблиці 3

Показники	Контроль	Дослід	t емп
Фагоцит. індекс (ФІ), %	50,00±5,50	50,60±3,62	0,3
Фагоцит. число (ФЧ), од.	2,81±0,26	3,10±0,30	2,4
Гуморальний імунітет:			
ЦККи, ум.од.	46,80±14,84	59,40±21,12	1,5
IgE, МОд/мл	3,52±0,71	4,44±1,61	1,7
IgA, г/л	1,59±0,12	1,67±0,076	2,0
IgM, г/л	0,363±0,029	0,365±0,019	1,0
IgG, г/л	2,41±0,25	2,69±0,27	2,5

*t - коефіцієнт Ст'юдента, при $t > 2,8$ достовірні зміни ($p < 0,05$).

В гуморальній ланці імунітету сенсibiliзованих тварин відмічено помірне зростання вмісту циркулюючих імунних комплексів на 12,7 % та недостовірне збільшення рівнів імуноглобулінів класу IgE на 26 %, класу IgA - на 5,0 %, класу IgM - на 0,5 % та класу IgG - на 11,60 % порівняно з контролем (табл. 4). При вивченні фагоцитарної активності нейтрофілів під впливом суміші біокомпозитної виявили недостовірні зміни фагоцитарного індексу (ФІ) та фагоцитарного числа (ФЧ) на 10 % збільшення (табл. 4).

Висновок. Отримані результати дозволяють стверджувати, що біокомпозитна суміш викликає незначні порушення імунологічного гомеостазу у експериментальних тварин. Показники неспецифічного клітинного компонента імунної системи суттєво не змінюються під дією біокомпозиту.

Виявлена здатність препарату до індукції реакції гіперчутливості сповільненого типу, що свідчить про можливу алергізацію організму по комплементзалежному типу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Остапчук М.О., Поліщук І.С., Мазур О.В., Максимов А.М. Використання біопрепаратів – перспективний напрямок вдосконалення агротехнологій. *Сільське господарство та лісівництво*. 2015. №2, с. 5-17.
2. Мариноха П. Микробиологическое оздоровление почв. *Агроном*. 2000. № 3. с. 28–29.
3. Козар С.Ф., Надкерничий С.П., Шерстобоев М.К., Патица В.П. Виробництво біопрепаратів комплексної дії: проблеми становлення. *Бюл. Ін.-ту с.-г. мікробіології*. 1998. № 2. с. 30–33.
4. Куц О.В. Ефективність мікробних препаратів в технології вирощування помідора. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2017. № 6 (70). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2017_6_8.
5. Смирнов В.В., Козачко И.А, Вьюницкая В.А. Эндوفитные бактерии рода – перспективные культуры для создания биологических средств защиты растений от болезней. *Микробиологический журнал*. 1995. Т. 57. № 5. с. 69–78.
6. Туркіна В.А., Грушка О.І., Альохіна Т.А. Вивчення алергопотенціалу біопрепаратів САНЕКС. *Львівський медичний часопис (AML)*. 2019. Том 25. № 2-3. с. 64-68.

7. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.III.1986. *European Treaty Series No. 123*. URL: <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm> (accessed on 11 April 2005)
8. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249. *Офіційний вісник України*. 2012 р. № 24. с. 82.
9. МУ 1.1.578-9: Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы. [Утв. Госкомсанэпиднадзором РФ 21.10.1996]. Изд. офиц. Москва. 1997. 24 с.
10. Алексеева О.Г., Дуева Л.А. Аллергия к промышленным соединениям. Москва: Медицина, 1978. 272 с.
11. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. Москва: Медицина, 1987. 364 с.
12. Романишин Я.М., Темник І.В., Лаповець Л.Є. та ін. Методичні рекомендації для оцінки імунного статусу людини: клініко-лабораторна діагностика алергічних захворювань, типування лейкоцитів, оцінка імунограми: методичні рекомендації. Львів, 1999. 26 с.
13. Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М. та ін. Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення. Методичні рекомендації. Київ, 2007. с. 33-35.
14. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лабораторное дело*. 1981. №8. с.493-495.

REFERENCES

1. Ostapchuk M.O., Polishchuk I.S., Mazur O.V., Maksimov A.M. (2015), “The use of biological products is a promising area for improving agricultural technologies”, *Sil's'ke hospodarstvo ta lisivnytstvo*, No 2, 5-17.
2. Marinokha P. (2000), “Microbiological improvement of soils”, *Agronom*, No 3, 28–29.
3. Kozar S.F., Nadkernychy S.P., Sherstoboev M.K., Patyka V.P. (1998), “Production of biological products of complex action: problems of formation”. *Byul. In.-tu s.-h. mikrobiolohiyi*. No 2, 30–33.
4. Kuts O.V. (2017), “The effectiveness of microbial drugs in the technology of growing tomatoes” *Naukovi dopovidi NUBiP Ukrainy*, No 6 (70), Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2017_6_8.

5. Smirnov V.V., Kozachko I.A, V'yunitskaya V.A.(1995), "Endophytic bacteria of the genus are promising crops for the creation of biological means of protecting plants from diseases." *Mikrobiologicheskij zhurnal*, T. 57, No 5, 69–78.
6. Turkina V.A., Hrushka O.I., Al'okhina T.A. (2019), "Study of the allergy potential of SANEX biological products", *L'vivs'kyi medychnyy chasopys (AML)*, T.25, No 2-3, 64-68.
7. European Communities (EC) (1986), *No. 123: European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*, European Treaty Series, Strasbourg, (accessed on 11 April 2005) available at: <http://www.conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>.
8. Order of the Ministry of Education, Science, Youth and Sports of Ukraine (2012). *№249: Poryadok provedennya naukovyvy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh* [No 249: The procedure for conducting scientific experiments, experiments on animals], Official Bulletin of Ukraine, № 24, 82.
9. Metodicheskiye ukazaniya(1997) *№ 1.1.578-9: Trebovaniya k postanovke eksperimental'nykh issledovaniy po obosnovaniyu predel'no dopustimykh kontsentratsiy promyshlennykh khimicheskikh allergenov v vozdukh rabochey zony i atmosfery*. [MU 1.1.578-9: Requirements for setting up experimental studies to substantiate the maximum permissible concentrations of industrial chemical allergens in the air of the working area and atmosphere], Moscow, USSR. (Approved. State Committee for Sanitary and Epidemiological Supervision of the Russian Federation on 21.10.1996).
10. Alekseyeva O.G., Duyeva L.A. (1978), *Allergiya k promyshlennym soyedineniyam* [Allergy to industrial compounds], Medicine, Moscow, Russia.
11. Men'shikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.P. i dr. (1987), *Laboratornyye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik* [Laboratory research methods in the clinic: a Handbook], Medicine, Moscow, Russia.
12. Romanyshyn YA.M., Temnyk I.V., Lapovets' L.YE. ta in. (1999), *Metodychni rekomendatsiyi dlya otsinky immuno statusu lyudyny: kliniko-laboratorna diahnozyka alerhichnykh zakhvoryuvan', typuvannya leykotsytiv, otsinka imunohramy: metodychni rekomendatsiy* [Methodical recommendations for assessing the immune status of people: clinical and laboratory diagnostics of allergic diseases, typing of leukocytes, assessment of immunograms: method. Recommendations], Lviv, Ukraine.
13. Trakhtenberh I.M., Dmytrukha N.M. ta in. (2007), *Porushennya immuno statusu orhanizmu lyudyny za diyi khimichnykh chynnykiv ta metody yikh vyznachennya. Metodychni rekomendatsiyi* [Violation of the immune status of the human body due to chemical factors and methods for their determination. Guidelines], Kyiv, Ukraine.

14. Grinevich YU.A., Alferov A.N. (1981) "Determination of the immune complex in the blood of cancer patients" *Laboratornoye delo*, No 8, 493-495.

ИССЛЕДОВАНИЯ АЛЕРГЕННОСТИ И ИММУНОТРОПНОСТИ БИОКОМПОЗИТНОЙ СМЕСИ

Грушка О.И., Туркина В.А., Призиглей А.В.

Аннотация. В современном земледелии важным направлением сохранения почв является использование микробиологических препаратов, производство которых постоянно увеличивается. Это порождает вопросы возможного воздействия препаратов на иммунную систему и аллергии работников. Проведено экспериментальное изучение аллергенного и иммунотоксического воздействия биокomпозитной смеси, как яркого представителя биопрепаратов. Полученные результаты позволяют утверждать, что биокomпозит вызывает незначительные нарушения иммунного гомеостаза у экспериментальных животных. Показатели неспецифического клеточного компонента иммунной системы существенно не изменились. Выявлена способность препарата к индукции реакции гиперчувствительности замедленного типа, что свидетельствует о возможной аллергии организма по комплементарному типу.

Ключевые слова: биокomпозитная смесь, аллергенность, иммунотоксичность, реакция гиперчувствительности замедленного типа.

STUDY OF ALLERGENICITY AND IMMUNOTROPICITY OF THE BIOCOMPOSITE MIXTURE

Hrushka O., Turkina V., Pryzyhley H.

Abstract. In modern agriculture, an important area of soil conservation is the use of microbiological drugs, the production of which is constantly increasing. This raises questions about the possible effects of drugs on the immune system and allergies of workers. An experimental study of the allergenic and immunotoxic effects of the biocomposite mixture as a bright representative of biological products. The obtained results suggest that the biocomposite causes minor violations of immunological homeostasis in experimental animals. Indicators of the nonspecific cellular component of the immune system have not changed significantly. The ability of the drug to induce a hypersensitivity reaction of the delayed type, which indicates a possible allergy of the body to the complement-dependent type.

Key words: biocomposite mixture, allergenicity, immunotoxicity, delayed type hypersensitivity reactions.

Грушка Оксана ORCID ID 0000-0003-1874-5281; +38(097)5056681; expertiza39@gmail.com

Туркина В. ORCID ID 0000-0002-0660-8485

Призиглей Г. ORCID ID 0000-0003-2939-4595