



NORWEGIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT OF THE INTERNATIONAL SCIENCE

No25/2018

Norwegian Journal of development of the International Science

ISSN 3453-9875

VOL.2

It was established in November 2016 with support from the Norwegian Academy of Science.

DESCRIPTION

The Scientific journal “Norwegian Journal of development of the International Science” is issued 12 times a year and is a scientific publication on topical problems of science.

Editor in chief – Karin Kristiansen (University of Oslo, Norway)

The assistant of the editor in chief – Olof Hansen

- James Smith (University of Birmingham, UK)
 - Kristian Nilsen (University Centre in Svalbard, Norway)
 - Arne Jensen (Norwegian University of Science and Technology, Norway)
 - Sander Svein (University of Tromsø, Norway)
 - Lena Meyer (University of Gothenburg, Sweden)
 - Hans Rasmussen (University of Southern Denmark, Denmark)
 - Chantal Girard (ESC Rennes School of Business, France)
 - Ann Claes (University of Groningen, Netherlands)
 - Ingrid Karlsen (University of Oslo, Norway)
 - Terje Gruterson (Norwegian Institute of Public Health, Norway)
 - Sander Langfjord (University Hospital, Norway)
 - Fredrik Mardosas (Oslo and Akershus University College, Norway)
 - Emil Berger (Ministry of Agriculture and Food, Norway)
 - Sofie Olsen (BioFokus, Norway)
 - Rolf Ulrich Becker (University of Duisburg-Essen, Germany)
 - Lutz Jäncke (University of Zürich, Switzerland)
 - Elizabeth Davies (University of Glasgow, UK)
 - Chan Jiang (Peking University, China)
- and other independent experts

1000 copies

Norwegian Journal of development of the International Science

Iduns gate 4A, 0178, Oslo, Norway

email: publish@njd-iscience.com

site: <http://www.njd-iscience.com>

CONTENT

AGRICULTURAL SCIENCES

<i>Romanov A., Karputina M., Romanova Z.</i>	
IMPROVING BEVERAGE TECHNOLOGY USING BALANCED COMPOSITION OF RAW MATERIALS.....	3

BIOLOGICAL SCIENCES

<i>Gherasimov Yu.</i>	
CRUSTACEA AND ROTATORIA IN THE POND NEAR SAMARA-CITY HIPPODROM	9

CHEMICAL SCIENCES

<i>Kyrii S., Tyvonenko A., Kosogina I., Dontsova T., Astrelin I., Melnichuk O.</i>	
A COMPARISON OF CARBON-CONTAINING AND CLAY SORPTION MATERIALS AND (NANO)COMPOSITES BASED ON THEM	19

MEDICAL SCIENCES

<i>Klimova E., Drozdova L., Lavinskaya E., Minuchin D.</i>	<i>Kruchenok I., Aleshkevich A., Stebunov S., Glinnik A., Shilo R.</i>
INDIVIDUAL FEATURES OF THE SELF-TOLERANCE LOSS IN VARIOUS CLINICAL MANIFESTATIONS OF MYASTHENIA GRAVIS AND THE RATIONALE FOR TREATMENT	POSTOPERATIVE EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF BARIATRIC SURGICAL TREATMENT AND DETECTION OF EARLY COMPLICATIONS USING MULTISLICE COMPUTED TOMOGRAPHY.....
<i>Murzaikina E., Usanova T.</i>	<i>Trushina E., Timonin A., Ryger N., Vybornov V., Mustafina O.</i>
MODERN TREATMENT METHODS OF COMPRESSION - ISCHEMIC NEUROPATHY OF THE FACIAL NERVE.....	THE STUDY OF THE IMMUNOMODULATING EFFECT OF BCAA IN RATS IN THE EXPERIMENT
<i>Sichkar D., Melekhin V., Korotkov A. Kostyukova S., Makeev O.</i>	
CELL LINE OF POORLY DIFFERENTIATED ADENOCARCINOMA FROM METASTASES OF HUMAN BREAST CANCER FOR THE DEVELOPMENT OF PERSONALIZED TUMOR THERAPY.....	38
	43
	35

PHARMACEUTICS

<i>Kukhtenko O., Gladukh Ie.</i>	
ANALYSIS OF TECHNOLOGY FOR PLANT EXTRACT PRODUCTION USING THE MATHEMATICAL MODELING METHOD.....	51

IMPROVING BEVERAGE TECHNOLOGY USING BALANCED COMPOSITION OF RAW MATERIALS

Romanov A.
Karputina M.
Romanova Z.

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ НАПИТКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
СБАЛАНСИРОВАННОГО ЗА КОМПОНЕНТНЫМ СОСТАВОМ СЫРЬЯ**

Романов А.С.
Карпутіна М.В.
Романова З.Н.

Abstract

The composition and properties of malt extract as a basis for a non-alcoholic beverage were studied, optimal ratios of malt extract, aqueous extract of strawberries, raspberries and the required amount of glucose-fructose malt have been selected to produce a balanced, component composition of a beverage with harmonious taste.

Аннотация

Исследован состав и свойства солодовых экстрактов, как «основы» для безалкогольного напитка, подобраны оптимальные соотношения солодового экстракта, водного экстракта клубники, малины и необходимого количества глюкозно-фруктозный патоки для получения сбалансированного по компонентным составом напитка с гармоничным вкусом.

Keywords: water extract of strawberry, raspberries, malt extract, stability, extraction, physicochemical indices, non-traditional raw materials, recipe.

Ключевые слова: водный экстракт клубники, малины, солодовый экстракт, устойчивость, экстракция, физико-химические показатели, нетрадиционная сырье, рецептура.

Целью работы было осуществление подбора и исследования состава нетрадиционного сырья по возможности разработки так называемой «основы» для безалкогольных напитков специального назначения с использованием солодовых экстрактов.

Одной из важнейших проблем развития пиво-безалкогольной отрасли в наше время является повышение качества выпускаемой продукции, ее маркетинговой конкурентоспособности, в первую очередь снижение себестоимости и улучшение ассортимента. В современных экономических условиях этого можно достичь путем разработки и внедрения способов производства, направленных на сокращение продолжительности основных производственных стадий и улучшения качества напитков без значительных затрат материальных и энергетических ресурсов. Одним из направлений решения данной проблемы является оптимизация технологии безалкогольных напитков путем использования так называемых «основ» - базовых полупродуктов, частей с основным набором подготовленных ингредиентов, совершенствование состав напитка, предоставление ему профилактически-оздоровительных свойств. Основы для напитков зарубежного производства готовят, в основном с использованием концентрированных цитрусовых соков. Применяют обычно шестикратно концентрированный сок с содержанием сухих веществ до 65%, пульпы не более 5%. При необходимости в него добавляют красители, кислоту и консерванты.

Концентраты для безалкогольных напитков отечественного производства, как правило, состоят из 2-х частей: ароматической и экстрактивной. Ароматическую часть А готовят путем растворения эфирных масел в спирте. Прочность ароматической части А не менее 93%. Экстрактивную часть Б готовят смешиванием водно-спиртовых экстрактов травы зверобоя, корня солодки, елеутрококка (или левзеи), красителя и лимонной кислоты. Полученную смесь упаривают под вакуумом до содержания сухих веществ $80 \pm 2\%$. Сохраняют обе части отдельно, смешивают непосредственно перед производством напитка. Эта технология является энерго и материалозатратной. К тому же требует длительного времени и большого штата работников.

Разработка технологий с применением основ является актуальной, потому их использование в производстве напитков экономически выгодна, так как упрощается технология, сокращаются потери сырья.

Задачей исследований была разработка напитка с использованием «основ» для изготовления безалкогольных напитков с использованием нетрадиционного растительного сырья и зерновых экстрактов, соответственно отобранных за составом ценных компонентов.

Выход на рынок сразу двух гигантов мировой безалкогольной индустрии - PepsiCo и Orangina Group, дают основания предполагать о том, что будут продолжаться серьезные изменения в расстановке сил лидеров. Продукция PepsiCo уже давно

представлена на украинском рынке, но вот собственной производственной базы в Украине в компании никогда не было. В любом случае выигрывает потребитель, прежде всего за счет вытеснения с рынка некачественной продукции.

С дальнейшим развитием рынка в Украине все больше будет появляться нишевой продукции украинскому потребителю уже хорошо известной: холодные чаи, энергетические напитки. Но в то же время широкое разнообразие функциональных продуктов, которым уже не удивишь потребителей Западной Европы и США, украинскому потребителю по прежнему недостает. В частности ниша напитков на пряно-ароматическом сырье, специального назначения, функционального назначения остается свободной.

В рамках рассмотренных тенденций особую актуальность представляет развитие различных концентрированных основ для безалкогольных напитков.

Решение этих задач может осуществляться по двум направлениям:

- создание эффективных технологий по переработке растительного сырья, обеспечивают максимальное обогащение получаемых настоев и экстрактов природными экстрактивными веществами. Создание концентратов на основе экстрактов должно обеспечиваться разными формами: жидкими, высококонцентрированными, пастообразными, порошкообразными, в виде гранул и др;
- обогащение концентрированных основ незаменимыми нутриентами и их премиксами.

Последнее направление имеет практическое применение при разработке безалкогольных напитков различной функциональной направленности.

Таким образом, тенденция развития рынка безалкогольных напитков в Украине должна быть ориентирована на продукты здорового питания.

Создание и совершенствование технологий концентрированных основ на натуральной основе является необходимым условием для стабильного развития отечественного производства высококачественных безалкогольных напитков. [2,3,4]

Важное значение имеет комплексное использование растительного сырья с изучением его действующих и минорных компонентов, обеспечивающих направление функциональных свойств концентратов и напитков на их основе. [3,4]

Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что вегетативные части растений содержат биологически активных веществ не меньше, а иногда и больше, чем плоды, ягоды и овощи, а их использование позволяет получать концентраты и напитки из них с мягкими, пикантными, гармонично-индивидуальными вкусовыми и ароматическими.

К сожалению, проблема комплексного применения указанного сырья практически не решается.

Таким образом, тенденция развития рынка безалкогольных напитков в Украине должна быть ориентирована на продукты здорового питания.

Ориентируясь на литературные источники и богатое содержание ценных компонентов, было исследовано листья и стебли смородины, малины и облепихи на предмет использования добавки к концентрату безалкогольных напитков [1,4].

Малина европейская, малина обыкновенная или просто малина (*Rubus idaeus*, местные названия: малина красная, малинник, медвежья ягода) - куст семейства розовых (*Rosaceae*) 1-2 м высотой с годовыми вегетирующими побегами и одревесневшими двухлетними стеблями, которые образуют цветоносные грозды.

В малине содержатся пектины, которые помогают выводить из организма через кишечник различные вредные вещества, холестерин в том числе и радиоактивные элементы, поэтому малину рекомендуют людям, работающим на разных тяжелых предприятиях. Кумарины, содержащих в малине, улучшают свертываемость крови, и снижает уровень протромбина. Кумарины сосредоточены в листьях и в ветвях. Антоцианы укрепляют капилляры, и уменьшают склонность к склерозу. Фитостерины уменьшают вероятность развития атеросклероза. Содержится в составе малины калий способствует улучшению состояния людей с больным сердцем, так же калий действует как мочегонное. В малине есть йод, который благотворно влияет при бронхите, вызывая отхаривание.

Клубника - очень распространенная ягода. Одна из органических кислот, которая содержится в клубнике, нейтрализует раковые эффекты при табакокурении. Заболевания почек и мочевых путей, ревматизм и заболевания печени, боли в суставах и малокровие - при всех этих болезнях можно смело употреблять клубнику.

Отвар листьев (*Folia*) клубники издавна используется как хорошее средство от бессонницы. Клубника - хорошее профилактическое средство от атеросклероза и гипертонии, она нормализует давление и обмен веществ.

Чай с малиной, клубникой или с их листочками, заваренные вместе с заваркой успокаивает боли в желудке и в кишечнике при гастрите. Малина содержит много меди, а медь входит в состав многих антидепрессантов, поэтому малину нужно есть тем людям, у которых работа связана с большим нервным напряжением. За счет того, что малина содержит витамин А, Е, РР, С повышается тонус и улучшается самочувствие. [1,5].

Химический состав листьев малины и клубники богат: антоцианидины и антоцианы - водорасстворимые флавоноиды (мощные антиоксиданты), фитостерины (кемферол), дубильные вещества, эфирные масла, борнеол, антоцианы: каллистефин, хризантемин, летучие соединения: вербенона, цитронелол, миртенол, эвгенол, ванилин, органические кислоты (лимонная, яблочная, коричная, гидроксибензойная, галловая, хлорогеновая, салициловая) и их эфиры, а также эллаговая кислоту, которая является естественным фенольным антиоксидантом. Аскорбиновая кислота, или витамин С, сильный антиоксидант и хелатирующий агент. В результате

литературного обзора и учитывая значимость использования растительных экстрактов, пришли к выводу, что использование малины и клубники, а

именно экстракта листьев и веточек, богатых фенольные компоненты и кумарины и витамины (вит. С, рутин) будет уместным при изготовлении безалкогольных напитков (рис.1,2)

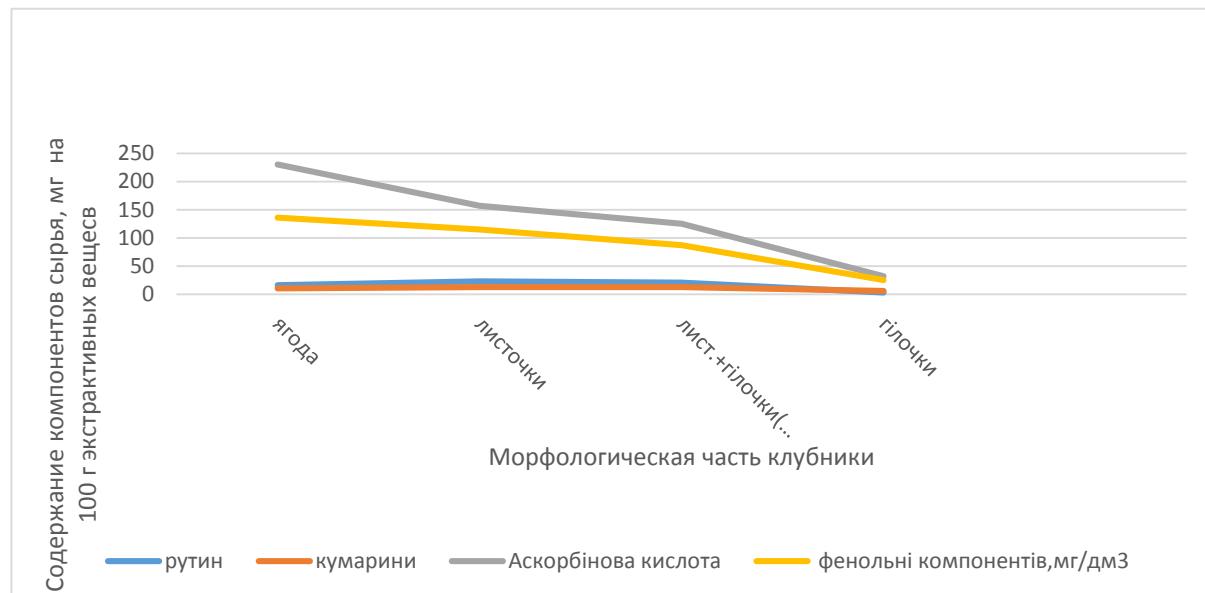


Рис 1. Зависимость содержания компонентов клубники

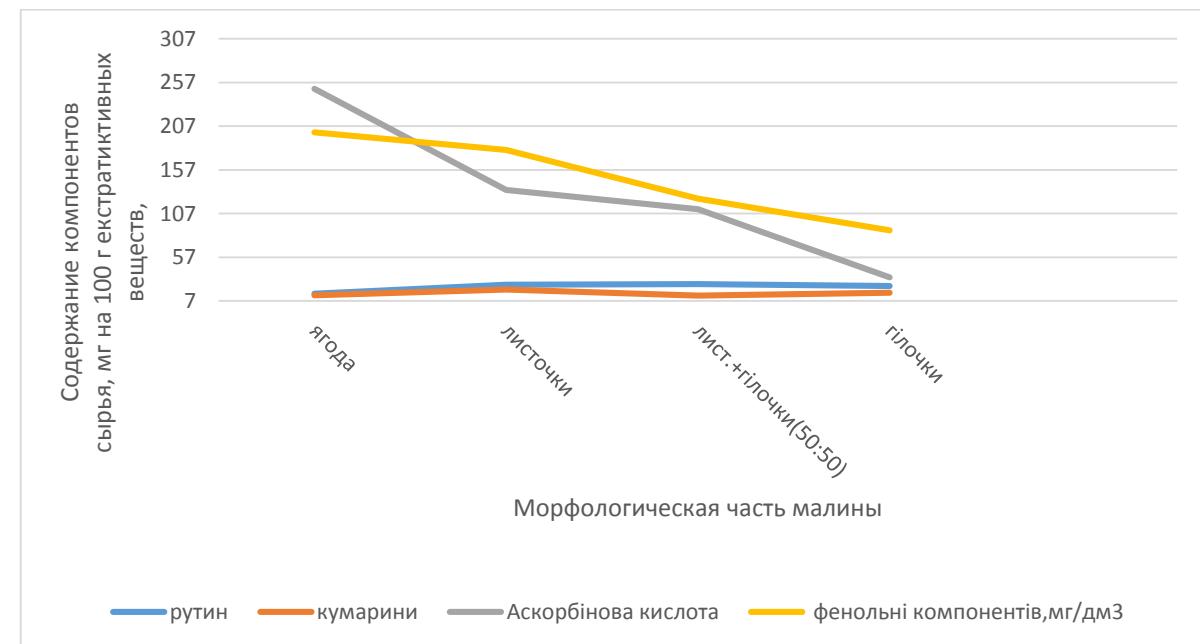


Рис.2 Зависимость содержания компонентов малины

Для предварительной оценки качественного состава водной или спиртовой вытяжки малины и клубники (листочки и побеги) проводили общепринятые качественные реакции с последующим определением фенольных компонентов спектрофотометрическим методом. Определение суммы полифенолов проводили спектрофотометрическим методом путем измерения показателя абсорбции исследуемой пробы после добавления реагента Фолино-Чекальтеу и 20% раствора натрия карбоната.

Оптическую плотность измеряли в кювете с толщиной слоя 10 мм на спектрофотометре СФ-46 при соответствующей длине волны. Пересчет процентного содержания суммы полифенолов проводили на хлорогеновую кислоту. [4]

Содержание фенольных соединений, в том числе рутину в порошках, полученных с малины и клубники представлен в таблице 1.

Таблица 1

Содержание фенольных соединений.

№ Об- разца	Вариант обработки	Порошок малины		Порошок клубники	
		Сумма фе- нольных	Рутин	Сумма феноль- ных	Рутин
1	Экстракт водный, подогретый до 100°C, выдержан 10 мин.	2,3	1,02	1,5	0,3
2	Экстракт водный, доведенный до кипения и прокипяченный течение 3-5 мин.	2,38	1,1	1,67	0,36
3	Выдерживание ВДП в 55% водно-спиртовой смеси в течении 2-х суток	2,63	1,84	1,8	0,64
4	Выдерживание ВДП в 70% водно-спиртовой смеси в течении 2-х суток	2,4	1,8	1,67	0,58

Образец №2, принадлежащий экстракту водного порошка из морфологических частиц малины и клубники, доведенный до кипения и прокипяченный течение 3-5 минут по содержанию фенольных

компонентов и по аромату подошел для дальнейших исследований поскольку спиртовые экстракты материалозатратны.

Далее проводили исследования времени экстракции кипячением, о чем свидетельствуют данные таблицы 2.

Таблица 2

Органолептические показатели экстракта малины при экстрагировании кипячением

Обра- зец	Продолжи-тель- ность кипяче- ния, мин	Цвет	Аромат	Вкус
1	1	свежий, соломенно-желтый, слабо насыщен, без посторонних помутнений	слабый, с оттенками специй	слабый, ненасыщенный, травянистый
2	3	светлый, соломенно-желтый, средней интенсивности, без посторонних помутнений;	средней интенсивности присутствуют оттенки специй и свежего сена;	приятный, средне насыщенные оттенки луговых трав
3	5	насыщенный, соломенно-желтый, с зеленоватым оттенком, без посторонних помутнений.	интенсивный, ярко выраженные оттенки пряностей и свежего сена	насыщенный, с легкой горчинкой, с ярко выраженной терпкостью.
3	8	насыщенный, соломенно-желтый, с зеленоватым оттенком, без посторонних помутнений;	интенсивный, присутствуют оттуда оттенки горелого	насыщенный, с неприятной горечью и терпкостью

По данным проведенной органолептической оценки исследуемых образцов экстракта порошка малины, которые приведены в табл.2, было определено, что экстракт, который готовится путем кипячения измельченных листьев и веточек в воде в течение 3 мин, имеет лучшие органолептические

свойства по сравнению с другими образцами, следовательно этот режим приготовления экстракта малины является оптимальным. Клубнику из эксперимента исключили из насыщенные травяные оттенки в аромате и соответствующий привкус.

Таблица 3

Физико-химические показатели экстракта малины при экстрагировании кипячением в течение 3 минут

№ об- разца	Продолжительность кипячения, мин.	pH	Содержание СР, %
1	1	6,81	0,5
2	3	6,77	0,6
3	6	6,81	0,6
4	9	6,73	0,6
5	11	6,57	0,7

Водный экстракт пряно-ароматического сырья измельчали, просеивали до однородной массы и брали навески в количестве 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 г на 100 см³ воды, кипятили в течение 3 мин.

Данные сенсорного анализа заносили в таблицы.4

Таблица 4

Органолептические показатели экстракта листьев и веточек малины

№ образца	Количество экстракта, г	Внешний вид	Прозрачность	Аромат	Вкус
1	0,25	цвет светло-соломенный прозрачный	прозрачный, без осадка	соломенный прозрачный, без осадка травяной аромат лесных трав	Соломен--ный, Травянистый, слабый привкус травы
2	0,5	Соломен-ный	прозрачный, без осадка	травяной	травяной травяной, аромат лесных трав
3	0,75	янтарный	прозрачный, без осадка	травяной, более интенси-вный чем предыдущий	слаженный травяной с оттенком луговых трав
4	1,0	янтарный	прозрачный, без осадка	травяной, интен-сивный	Интенсив-ный травяной
5	1,25	интенсив-ный медовый	прозрачный, без осадка	интенсивный, сильно травяной	травяной, с горчинкой

Общая характеристика растворов: с увеличением концентраций цвет становится более интенсивным, все растворы прозрачны, без осадка, аромат усиливается, вкус становится более интенсивным. По результатам опытов установлено: 0,75 г и 1,0 г в 100 см³ экстракта малины лучше удовлетворяет наши потребности. Для удобства приготовления растворов отбираем образец 1,0 г в 100 см³ (1% водный раствор) [1,3, 4].

Для создания основы было предложено использование полисолодовых экстракта (ПСЭ). Нами был выбран полисолодовые экстракты: «Золотые зерна» и «Надежда» для изучения возможности их применения в производстве безалкогольных напитков. [3,4].

Приготовление водного раствора полисолодовых экстракта (ПСЭ): в сухие химические стаканы брали соответствующие навески экстракта, г, содержимое стакана количественно переносили в мерную колбу на 100 см³ и доводили дистиллированной водой до метки. Определяли органолептические показатели. Общая характеристика растворов: все растворы замутненные, без осадка несмотря на количество экстракта (от 0,25 до 8,0 г), интенсивность возрастает с увеличением количества экстракта. Аромат усиливается с ростом навески, однако его оттенки меняются: навески до

5г на 100 см3 характеризуются оттенками травяного и медового, после 5г - преимущественно солодовые оттенки вкуса. Вкус медовый присутствует во всех образцах. С увеличением количества экстракта сладость растет, однако в образцах поз 9 и 10 чувствуются солодовые резкие оттенки, как по вкусу, так и в аромате.

Для определения устойчивости водного раствора экстракта лучшие образцы (образец с количеством экстракта 3,0 г и образец с количеством экстракта 4,0 г) держим в холодильнике при комнатной температуре 3 суток.

В холодильнике образцы стали менее замутненные. Выпадает не устойчивый осадок. После фильтрования получили фильтрат устойчивый, осадок не образовался при хранении в течение 3-х суток в холодильнике.

Далее осуществляли подбор 1% водного экстракта малины на 100 см³ 3% -го раствора полисолодового экстракта.

В результате получили основу, состоящую из полисолодового экстракта и 1% - го раствора малины, для подслащения выбрали глюкозо-фруктозный сироп определенной концентрации.

По результатам исследований подобранный рецептура напитка «со вкусом меда»:

Рецептура на 100 дал

Название сырья.	Единица измерения	Содержание сухих веществ в сырье,% масс.	Норма расхода	Содержание сухих веществ по нормам расхода,% масс
Глюкозно-фруктозная патока (сироп)	кг	65,0	38,00	24,70
Полисолодовый экстракт	кг	75,0	75,18	56,39
Кислота лимонная	кг	90,97	1,08	0,98
Настой малины (ветки, листья)	кг		0,30	
Ароматизатор "Исинди"	кг		0,20	
Количество кислоты, внесенной с полисолодовых экстрактом	кг	0,05	75,18	0,04
Вода	дм ³		до 1000,00	
Диоксид углерода	кг		4,15	
Всего сухих веществ в напитке	кг			82,07

ВЫВОДЫ

1. Для расширения ассортимента безалкогольных напитков возможно и необходимо использовать нетрадиционные виды сырья такие как экстракты листьев малины, клубники, облепихи.

2. Экстракты порошка малины и клубники - источник биодоступных активных соединений (фенольных компонентов, кумаринов, аскорбиновой кислоты), которые из-за своей растительной природы мягко действуют на организм но не вызывают побочных эффектов.

3. Экстракт листьев и веточек малины - нетрадиционное сырье, до сих пор в производстве напитков не использовался.

4. Предложен новый напиток: «Со вкусом меда». В качестве нетрадиционного сырья, которое используется для приготовления напитка экстракт из веточек и листьев малины, который отличается повышенным содержанием биологически активных веществ. 5. Предложенная технология приготовления основ для напитков по подобранными рецептами.

6. Оптимальная доза внесения экстракта порошка листьев малины в купажный сироп составляет 3, 0 см³ 1% - го раствора травы.

7. Приготовление купажного сиропа проводили холодным способом, так как при данном способе сохраняются натуральный вкус и аромат сырья, используемого для приготовления выбранного ассортимента готовой продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Берестень Н.Ф. Функциональность в безалкогольных напитках- концепция и инновационный проект компании «Дёлер»/ Н.Ф. Берестень, О.Г.Шубина// Пиво и напитки.-2000.-№5-С.68-69.

2. Экспертиза напитков : учеб.-справоч. пособие / В. М. Позняковский, В. А. Помозова, Т. Ф. Киселева, Л. В. Пермякова. – 5-е изд., перераб. и доп. –Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2002. – 384 с.

3. Домарецький В. А. Технологія екстрактів, концентратів і напоїв із рослинної сировини : підручник / В. А. Домарецький, В. Л. Прибильський, М. Г. Михайлов ; за ред. В. А. Домарецького. – Вінниця : Нова Книга, 2005. – 408с.

4. Напої безалкогольні. Загальні технічні умови : ДСТУ 4069:2016. – [Чинний від 2016-06-01]. – Київ : Держспоживстандарт України, 2016 – 22 с. – (Національний стандарт України).

5. Мелетьєв А. Є. Технохімічний контроль виробництва солоду, пива і безалкогольних напоїв : підручник / А. Є. Мелетьєв, С. Р. Тодосійчук, В. М. Кошова ; за ред. А. Є. Мелетьєва. – Вінниця : Нова Книга, 2007. – 392 с.

6. Кошова В.М. Нові аспекти використання нетрадиційної сировини/ В.М. Кошова, Т.В. Дубицька// Харчова промисловість,-2008. -№6.-с. 57-59

574.5 (285.3): 504 (1-21)

CRUSTACEA AND ROTATORIA IN THE POND NEAR SAMARA-CITY HIPPODROM**Gherasimov Yu.***Candidat biological science**Associate Professor of Department of Zoology Samara University***РАКООБРАЗНЫЕ И КОЛОВРАТКИ ПРУДА В РАЙОНЕ ИППОДРОМА В Г. САМАРЕ****Герасимов Ю.Л.***Кандидат биологических наук**Доцент кафедры зоологии, Самарский университет***Abstract**

Urban ponds have a decorative meaning and serve as a place for recreation of citizens, therefore the sanitary condition of urban ponds is very important for the population. Assess the state of the ecosystem of the pond is possible by species composition and dynamics of the number of mesozooplankton. A small polluted pond near the Hippodrome in Samara has been studied by standard hydrobiological methods. Twenty-two species of rotifers from 11 families and 21 species of crustaceans from 7 families were found.

Annotation

Городские пруды имеют декоративное значение и служат местом отдыха горожан, поэтому санитарное состояние городских прудов очень важно для населения. Оценить состояние экосистемы пруда можно по видовому составу и динамике численности мезозоопланктона. Небольшой загрязнённый мусором пруд возле Ипподрома в г. Самаре изучен стандартными гидробиологическими методами. Обнаружено 22 вида коловраток из 11-ти семейств и 21 вид ракообразных из 7-ми семейств.

Keywords: Urban pond, Crustacea, Rotatoria, numerity, biomass.**Ключевые слова:** Городской пруд, ракообразные, коловратки, численность, биомасса.**Введение**

Пруды играют важную роль в городской среде. Они могут быть элементом архитектурного ландшафта, центром рекреационной зоны, иметь хозяйственное значение. С природоохранной точки зрения пруды могут быть рефугиумами, где сохраняются виды, исчезнувшие из других водоёмов [1,2]. Но для населения города важно санитарное состояние всех прудов независимо от их назначения. Санитарное состояние прудов зависит как от характера и интенсивности антропогенного воздействия на них, так и от процессов самоочищения в их гидробиоценозах. Для оценки процессов самоочищения необходимо знать видовой состав гидробионтов и динамику численности их популяций. Важным компонентом любого гидробиоценоза является зоопланктон.

Изучение зоопланктона городских непроточных водоёмов активизировалось в СССР с 1980-х годов [3] и продолжилось в России [4,5]. В г. Самаре, промышленном центре с населением более 1 миллиона человек много прудов, как в рекреационных зонах, так и среди жилых домов. Систематическое изучение зоопланктона этих прудов началось в конце 1990-х годов [6,7] и продолжается до настоящего времени [8,9,10,11].

Район исследования

Один из небольших прудов располагается в Кировском районе г. Самары неподалёку от пересечения Московского шоссе и Проспекта Кирова.

По сведениям местных жителей, пруд был выкопан в 1930-е годы как пожарный водоём при открытых в то время сельскохозяйственной выставке и Ипподроме. После ликвидации выставки территория была застроена частными деревянными домами (избами) с приусадебными участками. Два таких дома сохранились до сих пор и их приусадебные участки выходят на южный берег пруда (2-5 м от уреза воды до заборов). Остальные деревянные дома были снесены, к югу вдоль Московского шоссе построены автосалоны, к северу - многоэтажный гараж (10 м от берега пруда). Восточнее пруда – пустырь, а за ним ипподром, западнее - металлические гаражи.

Вдоль верхнего края котловины кольцо старых тополей, сильно затеняющих зеркало воды, и их подроста. Размеры котловины 30 м на 20 м, но пруд обмелел и котловина заполняется водой не полностью, так что размеры зеркала воды меньше, и с весны до осени ещё уменьшаются за счет испарения. А.В.Шабанова приводит следующие размеры: 26 м на 18 м [12]. Глубина весной до 1,5 м, но значительно уменьшается к осени. Берег с южной стороны отлогий, с остальных довольно крутой. Грунты суглинистые. На дне толстый слой вязкого или с многочисленными опавшими листьями и ветками. Из водных растений в пруду обитают нитчатые водоросли, образующие «подушки» на лежащих на дне камнях и кусках бетонных конструкций. Присутствует ряска малая в небольшом количестве.

В середине лета происходит массовое размножение сине-зеленых водорослей (нами идентифицирован только *Microcystis aeruginosa*), придающее воде зеленоватый оттенок.

Пруд расположен таким образом, что не виден издалека и о нём знают, в основном, местные жители и автовладельцы, пользующиеся гаражами. Берега для отдыха неудобны (с востока густой подлесок, с юга и запада заборы, с севера в метре от берега разбитый и грязный проезд, по которому часто ездят автомашины). Рыболовов на берегах мы не видели ни разу. Тем не менее, на берегах большое количество упаковок и другого бытового мусора, более половины акватории занимает «остров» из плавающих использованных пэт-бутылок, деревяшек и т.д., ветер гоняет эту массу от берега к берегу. Дно пруда почти сплошь покрыто разнообразным мусором. Вода желтоватая с запахом плесени. В водоёме происходит размножение амфибий и в начале лета в нём много головастиков.

Жители деревянных домов выпускают в пруд стаю гусей, летом водой из пруда поливают свои огороды.

Сотрудниками Самарского архитектурно-строительного университета в 2013 г. был проведён гидрохимический анализ воды из пруда. Вода оказалась сульфатно-гидрокарбонатно-магниево-каль-

циевая слабопресная. Уровень минерализации более 1000 мг/л, жесткость 11-12 мг/экв. Величина pH от 7,88 до 8,42. Величина БПК₅ выше норматива. Превышены величины ПДК по концентрации сульфатов, фосфатов, нитритов, аммонийного азота, общего железа, СПАВ, нефтепродуктов, цинка, марганца, меди [12].

До настоящего времени экосистема этого пруда никогда не изучалась.

Методика

Пробы из пруда отбирали с конца апреля до конца ноября 2013 г. 1-2 раза в месяц. Отлов мезо-зоопланктона проводили планктонной сеткой (газ № 64) и 2-литровым батометром на трёх станциях по общепринятым методикам [13]. Пробы обрабатывались в лаборатории Экологии и охраны гидробионтов при кафедре Зоологии, генетики и общей экологии Самарского университета по общепринятым методикам [14]. Видовую принадлежность коловраток и ракообразных выясняли с помощью общепринятых определителей [15, 16, 17, 18]. Помощь в определении представителей кл. Ostracoda нам оказала Л.М.Семёнова (ИББВ РАН). Численность беспозвоночных рассчитывали как среднюю по 3-м пробам.

Результаты

На рис.1 показаны изменения температуры воды пруда за период отбора проб.

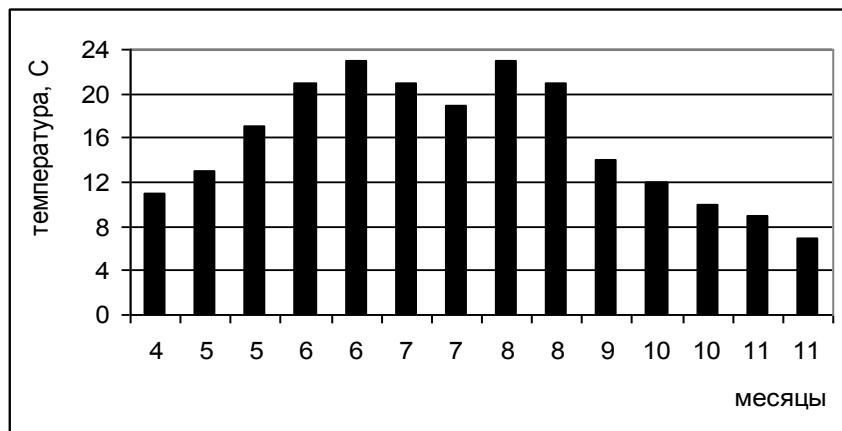


Рис.1. Сезонные изменения температуры воды в пруду Ипподрома

В пруду Ипподрома выявлено 22 вида коловраток, относящихся к 3-м отрядам, 11-ти семействам и 15-ти родам. Список видов приводится в табл.1.

Таблица 1.

Виды коловраток и частота их встречаемости в пробах (%)

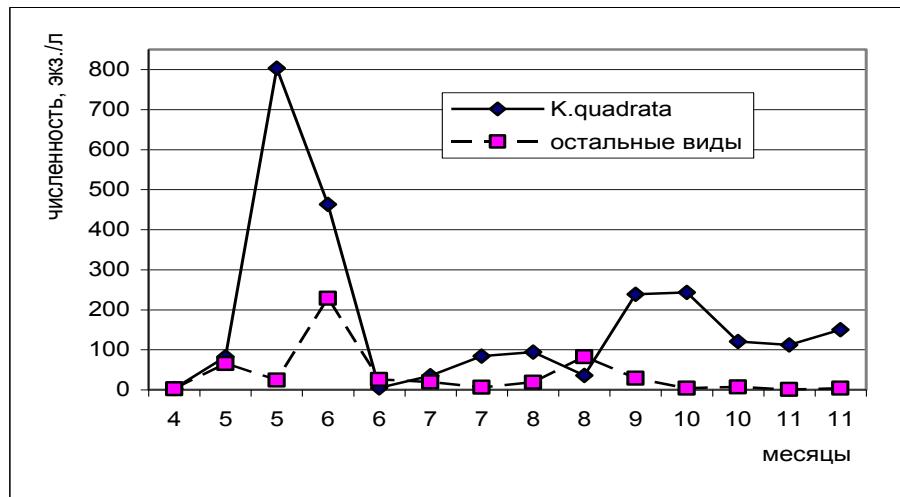
Таксон	% проб
Сем. Asplanchnidae	
<i>Asplanchna priodonta</i> Gosse, 1850	43
Сем. Brachionidae	
<i>Brachionus angularis</i> Gosse, 1851	10
<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas, 1776	36
<i>Brachionus plicatilis rotundiformis</i> Tschugunoff, 1921	33
<i>Brachionus quadridentatus</i> Hermann, 1783	12
<i>Brachionus urceus</i> (Linnaeus 1758)	26
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)	12
<i>Keratella quadrata</i> (Muller, 1786)	88
<i>Keratella valga</i> (Ehrenberg, 1834)	7
<i>Platias quadricornis</i> Ehrenberg, 1832	19
Сем. Colurellidae	
<i>Colurella sp.</i>	14
<i>Lepadella ovalis</i> (O.F.Muller, 1786)	5
Сем. Euchlanidae	
<i>Euchlanis dilatata</i> Ehrenberg, 1832	19
<i>Euchlanis meneta</i> Myers, 1930	7
Сем. Filinidae	
<i>Filinia longiseta</i> (Ehrenberg, 1834)	10
Сем. Hexarthridae	
<i>Hexarthra mira</i> (Hudson, 1871)	10
Сем. Lecanidae	
<i>Lecane lunaris</i> (Ehrenberg, 1832)	14
Сем. Notommatidae	
<i>Cephalodella catellina</i> (Muller, 1786)	33
<i>Eosphora najas</i> (Ehrenberg, 1830)	5
Сем. Synchaetidae	
<i>Polyarthra major</i> Burckhardt, 1900	21
Сем. Testudinellidae	
<i>Testudinella patina</i> Hermann, 1783	17
Сем. Trichocercidae	
<i>Trichocerca pusilla</i> (Lauterborn, 1898)	2

Только *Keratella quadrata* встречена более, чем в половине проб, *Asplanchna priodonta* почти в половине проб. Частота встречаемости 5-ти видов от 20 до 40% проб. *Trichocerca pusilla* пойман всего 1 экземпляр за весь сезон, *Lepadella ovalis* и *Eosphora najas* найдены в двух пробах каждая.

Все перечисленные в табл.1. виды ранее обнаружены в других прудах г. Самары [10], почти все обычны для наших городских водоёмов [10]. Все

они указаны в списке видов коловраток Куйбышевского водохранилища [19].

По численности в пруду Ипподрома резко доминирует *Keratella quadrata*, её максимальная численность 25 мая превышала 1300 экз./л. Субдоминант – *Polyarthra major* (максимальная численность 259 экз./л) (Рис.2).

Рис.2. Сезонная динамика численности *Keratella quadrata*

Как видно из рис.1. происходило 2 подъёма численности коловраток, при этом второй подъём *Keratella quadrata* произошёл осенью, когда у остальных видов численность стабильно уменьшалась.

Высокая численность *Keratella quadrata* обеспечивает резкое доминирование по численности сем. Brachionidae (Рис.3).

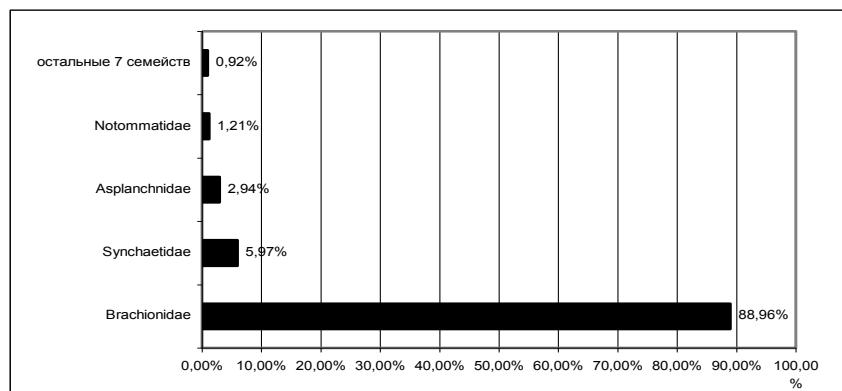


Рис.3. Доли (%) семейств коловраток по численности за сезон

В пруду Ипподрома выявлен 21 вид ракообразных, относящихся к 7-ми семействам и 18-ти родам. Список видов приводится в табл.2.

Таблица 2.

Виды ракообразных и частота их встречаемости в пробах (%)

Таксон	% проб
Сем. Cyclopidae	
<i>Cyclops vicinus vicinus</i> Uljanin, 1875	31
<i>Eucyclops serrulatus</i> (Fisher, 1851)	62
<i>Macrocylops albidus</i> (Jurine, 1820)	21
<i>Mesocyclops leuckarti</i> (Claus 1857)	64
<i>Microcyclops varicans</i> (Sars, 1863)	50
<i>Thermocyclops crassus</i> (Fisher, 1853)	67
Сем. Eudiaptomidae	
<i>Eudiaptomus graciloides</i> (Lilljeborg, 1888)	10
Сем. Bosminidae	
<i>Bosmina longirostris</i> (O.F.Muller, 1785)	24
Сем. Chydoridae	
<i>Alona affinis</i> (Leydig, 1860)	10
<i>Alona rectangula</i> Sars, 1862	10
<i>Campocercus rectirostris</i> Schoedler, 1862	2
<i>Chydorus sphaericus</i> (O.F.Muller, 1785)	7
<i>Pleuroxus aduncus</i> (Jurine, 1820)	5

<i>Pleuroxus uncinatus</i> Baird, 1850	7
Сем. Daphniidae	
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i> (O.F.Muller, 1785)	88
<i>Daphnia longispina</i> O.F.Muller, 1785	86
<i>Daphnia pulex</i> (DeGeer, 1778)	50
<i>Scapholeberis mucronata</i> (O.F.Muller, 1785)	14
<i>Simocephalus vetulus</i> (O.F.Muller, 1776)	7
Сем. Moinidae	
<i>Moina micrura</i> Hellich, 1877	7
Сем. Cypridae	
<i>Cypris pubera</i> O.F.Muller, 1776	19
Ostracoda spp.	26

Наиболее часто в орудия лова попадали *Ceriodaphnia quadrangula* и *Daphnia longispina*, ещё 5 видов встречены более чем в половине проб. 6 видов встречены всего по 1-2 раза за сезон. Интересна редкая встречаемость *Chydorus sphaericus*, который в большинстве прудов является массовым видом.

Все перечисленные в табл.2. виды ранее обнаружены в других прудах г. Самары [11], многие обычны для наших городских водоёмов [10]. Наименее распространены в самарских прудах *Campocercus rectirostris* и *Mesocyclops leuckarti*. Все виды из пруда Ипподрома указаны в списке видов ракообразных Куйбышевского и Саратовского водохранилищ [9,19].

По численности в 2013 г. доминировали *Daphnia longispina* (максимальная численность более 400 экз/л в конце августа), наусплии (более 300 экз/л в середине июня) и копеподиты циклопов (более 300 экз/л в конце сентября). Субдоминантами были *Thermocyclops crassus* (начало июля), *Ceriodaphnia quadrangula* (2-я половина июня) и *Daphnia pulex* (1-я половина мая).

Среди семейств по численности преобладали представители сем. Cyclopoidae и Daphniidae, но их численность сильно менялась по ходу сезона (рис. 4).

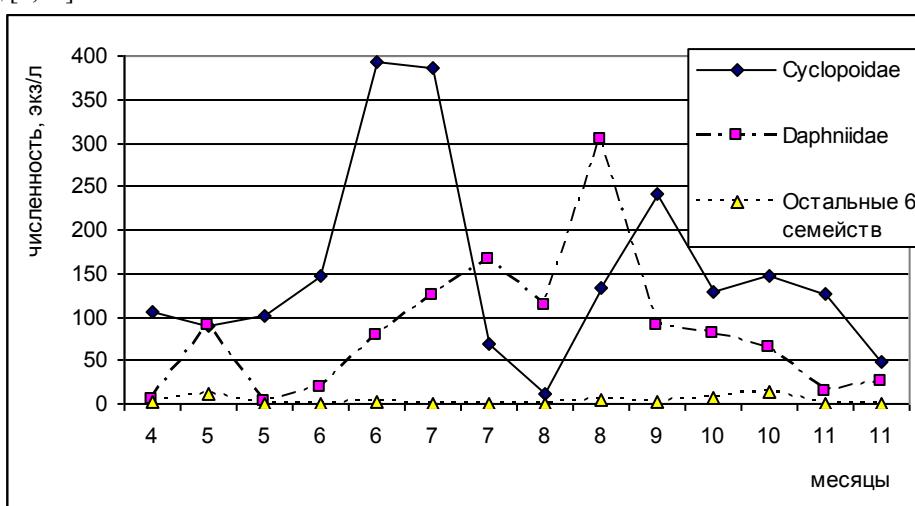


Рис. 4. Сезонная динамика численности семейств ракообразных

Циклопы преобладали в сообществе в большую часть сезона и только в конце июля – начале августа их численность резко снижалась.

Вклад семейств ракообразных в общую численность за сезон показана на рис.5.

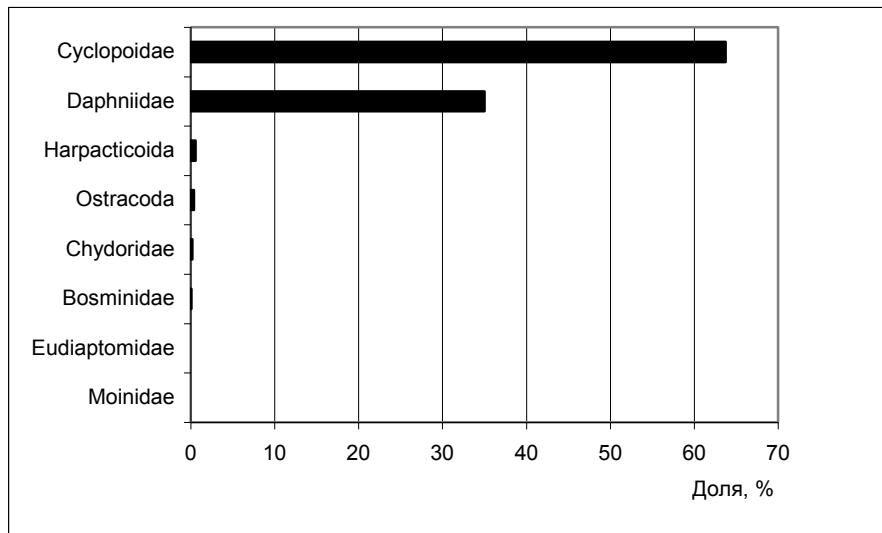


Рис.5. Доли семейств ракообразных в суммарной численности

Представители шести семейств составили менее 2% численности всех ракообразных. Особенностью данного пруда оказалась очень маленькая численность представителей сем. Chydoridae и Bosminidae, которые в большинстве других городских прудов обеспечивали более существенный вклад в численность ракообразных. Доминирование сем.

Cyclopoidae было результатом их активного размножения - численность неполовозрелых стадий циклопов доходила до 70% численности Cyclopoidae.

Соотношение численностей коловраток и ракообразных в мезозоопланктоне пруда показано на рис. 6.

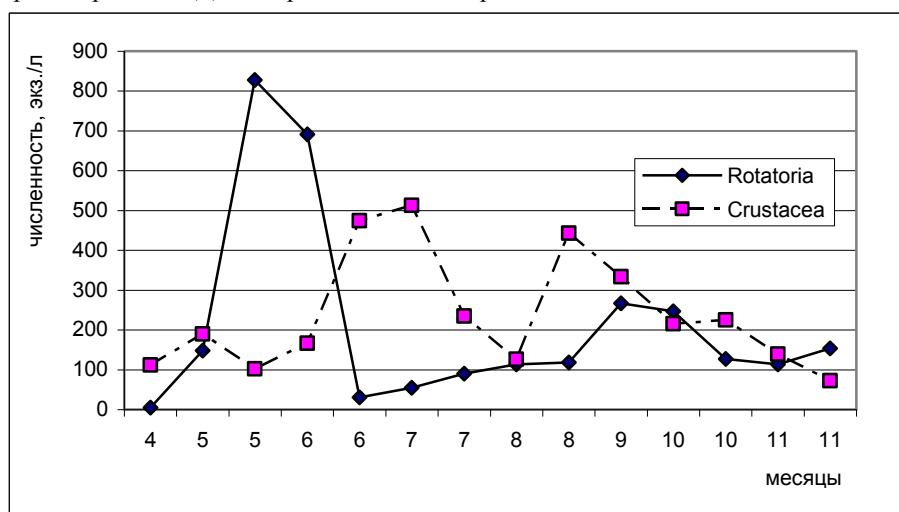


Рис. 6. Сезонная динамика численности коловраток и ракообразных

В целом количество коловраток и ракообразных в сообществе было почти одинаково: 47% и 53% соответственно, но динамика численности различается. Наиболее количество коловраток отмечено в мае-июне, что часто наблюдается в водоёмах нашего региона [9], в октябре число коловраток

превысило число ракообразных за счёт размножения *Keratella quadrata*.

Сезонные изменения биомассы коловраток по семействам показаны на рис.7. Поскольку различия по биомассе были очень велики, мы просуммировали биомассу 9-ти малочисленных семейств.

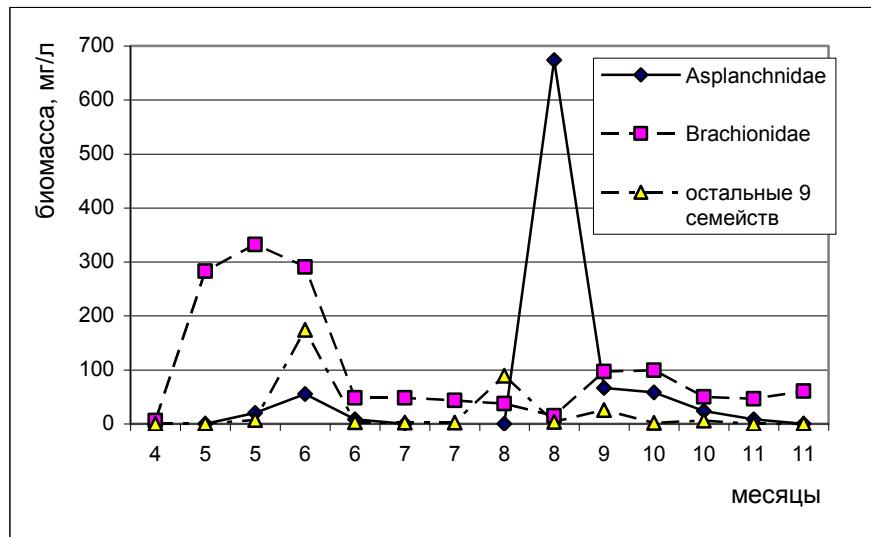


Рис. 7. Сезонная динамика биомассы коловраток

По биомассе резко доминировало сем. *Asplanchnidae* – 55% биомассы всех коловраток, однако это обусловлено очень большим увеличением численности единственного представителя *Asplanchna priodonta* в конце августа и крупными размерами данного вида. Субдоминант – сем. *Brachionidae* (36%), чья биомасса определялась двумя массовыми видами - *Keratella quadrata* и *Brachionus*

calyciflorus. Среди остальных 9-ти семейств несколько выделяются *Synchaetidae* (4%), представленное единственным видом *Polyarthra major*, и *Hexarthriidae* (2%), также представленное единственным видом *Hexarthra mira*. Средняя индивидуальная биомасса коловраток составила 0,00133 мг/м³.

Среди ракообразных основу биомассы составили сем. *Cyclopoidae* и *Daphniidae* (Рис.8).

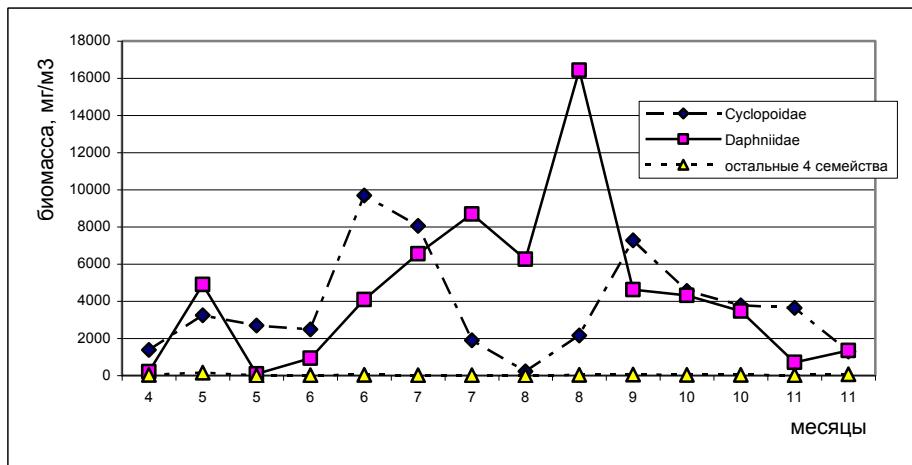


Рис. 8. Сезонная динамика биомассы ракообразных

Сезонные изменения динамики численности сем. *Cyclopoidae* не вполне соответствуют динамике его численности вследствие преобладания неполовозрелых стадий. Их доля в биомассе копепод была лишь немного меньше, чем доля взрослых циклопов. Доля семейств Bosminidae, Chydoridae, Eudiaptomidae, Moinidae и подкласса Ostracoda в сумме составляет менее 0,5% общей биомассы ракообразных.

Средняя индивидуальная биомасса ракообразных составила 0,03463 мг/м³, в основном за счет большого количества взрослых дафний в конце лета.

Мы сравнили вклад ракообразных и коловраток в биомассу мезоопланктона. Поскольку разница биомассы ракообразных и коловраток очень велика, соотношение между ними по ходу сезона было выражено в процентах (Рис.9).

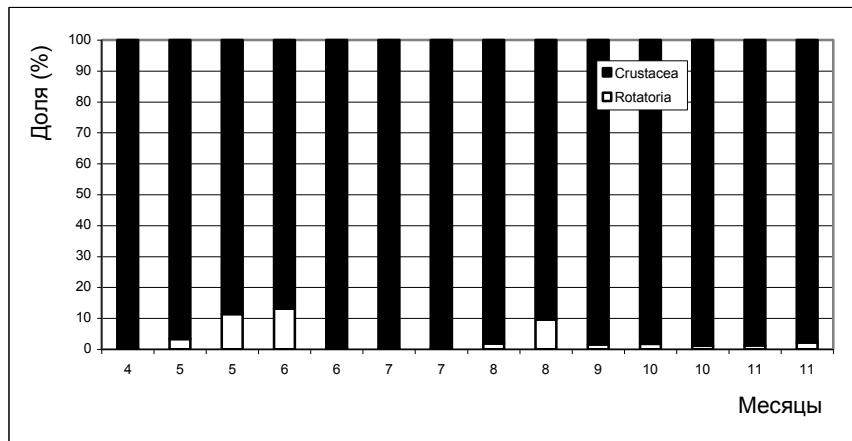


Рис. 9. Сезонная динамика биомассы коловраток и ракообразных

Величина индекса Шеннона по численности менялась в диапазоне 0,93 – 2,96 бит (среднее 2,23), по биомассе от 0,42 до 2,99 (среднее 2,07).

Наибольшая доля яйценосных особей среди коловраток отмечена у *B.calyciflorus* (в среднем 31% особей) и *K.quadrata* (в среднем 24% особей). Среди ракообразных наибольшие доли самок с яйцами были у *D.pulex* (37% особей) и *D.longispina* (26% особей). Все перечисленные виды внесли значительный вклад в численность зоопланктона. В популяциях циклопов доля самок с яйцами не превышала 10%.

По способу питания среди коловраток преобладали фильтраторы и вертификаторы, (97% видов), среди ракообразных фильтраторов меньше (81% видов).

Обсуждение

В пруду у Ипподрома выявлено 22 вида коловраток и 21 вид ракообразных. По количеству видов этот пруд занимает промежуточное положение между прудами со слабым антропогенным воздействием (руды в Ботаническом саду и в пригородной зеленой зоне, в которых выявлено от 70 до 100 видов) и прудами среди жилых домов (по 20-30 видов) [10,11]. В нем больше видов, чем в сходных по размеру, но более мелководных и периодически пересыхающих городских водоёмах: в пруду парка Победы, в пруду Санатория-Профилактория [20,21]. В пруду Ипподрома не обнаружены обычные для большинства других самарских прудов бделлоидные коловратки, а также представители родов *Synchaeta* и *Trichotria*. Видовой состав ракообразных, напротив, типичен [10,11], за исключением *Campocercus rectirostris* (встречен ещё в 4-х прудах) и *Mesocyclops leuckarti* (ещё в 3-х прудах). Однако эти 2 вида указаны во всех списках зоопланктона для Куйбышевского и Саратовского водохранилищ [9, 19, 22].

Численность мезозоопланктона в прудах, изучавшихся нами в 2013 г. сильно варьирует. По размерам пруд у Ипподрома схож с прудом на ул. Аэродромной, но численность мезозоопланктона в последнем почти в 3,5 раз меньше, более за счёт коловраток [21]. Связано это, возможно с мощным развитием нитчатых водорослей в пруду на ул. Аэродромной и сильным его высыханием. В 2-х

прудах неподалёку от ТЦ «Пирамида», которые по площади почти вдвое больше, численность мезозоопланктона была еще меньше (в печати), вероятно, это следствие проведённой там мелиорации. В более (в 3 раза) крупном сильно высыхающем пруду в 13-м микрорайоне численность мезозоопланктона наоборот в 1,5 раз больше (не опубликовано). Это может быть связано с наличием в нём зарослей водо-воздушных и погруженных макрофитов. Среди коловраток, как правило, доминируют планктонные виды, наибольший вклад вносят представители родов *Keratella*, *Polyarthra*. Меньше в пруду у Ипподрома значение родов *Brachionus*, *Filinia*, *Hexarthra*. Как и в других слабозарастающих прудах мала численность видов рода *Trichocerca* [23]. Доминирование циклопов в сообществе ракообразных характерно для ряда самарских прудов [21,24]. В других прудах г. Самары численность коловраток, как правило, больше, чем численность ракообразных [8, 9], в пруду же Ипподрома численность коловраток, наоборот, меньше. По сравнению с прудами в других городах, данный пруд по числу видов сопоставим с некоторыми прудами г. Вологды [25]. Однако в нём больше видов, чем в запущенных прудах парка Победы в г. Новокуйбышевске (36 видов) [26], в прудах г. Тюмени (в «достаточно чистых» по 29-32 вида) [27] и водоёмах г. Саратова [4].

Заключение

В пруду у Ипподрома бросается в глаза загрязнение бытовым мусором, который почти сплошь покрывает дно прибрежных мелководий, и удобные для подхода участки берега, плавает в большом количестве по поверхности воды. Пруд загрязняется также смывом с берегов грунта, в котором могут содержаться удобрения и ядохимикаты с приусадебных участков соседних домов, помётом гусей, с десяток которых хозяева часто выпускают в пруд. Определённый вклад вносят опавшая листва и ветки с окружающих пруд деревьев. Со стороны гаражей поступают нефтепродукты (мы видели небольшие их пятна на поверхности воды). Превышены ПДК по БПК₅, содержанию в воде SO₄, PO₄, NO₃, NH₄, Fe, СПАВ, нефтепродуктов, Zn, Mn, Cu [12]. Санитарно-эпидемиологическое состояние пруда также нельзя считать удовлетворительным,

т.к. величина КОЕ в нем превышает нормативы [28]. Поскольку до сих пор пруд посещался людьми не очень активно, районная и городская администрации не принимали мер по его очистке. А.В.Шабанова в 2013 г. оценила пруд у Ипподрома как рекреационно малозначимый [29], но район продолжает застраиваться, старые гаражи и сохранившиеся усадьбы скорее всего будут снесены. В частности, на месте Ипподрома предлагаются постройка многоэтажного жилого комплекса, в этом случае пруд может стать элементом его рекреационной зоны и его санитарное состояние приобретёт большое значение. Мы полагаем, что экосистема пруда сохранила определённый потенциал самоочищения. Поскольку в настоящее время загрязнение носит неорганизованный характер, привести этот пруд в порядок относительно несложно. Необходимо убрать мусор, удалить накопившийся донный ил, укрепить берега и сделать бордюр на проходящей мимо пруда дороге.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Downing, J. A. Emerging global role of small lakes and ponds: little things mean a lot // Limnetica, 2010, V. 29. P. 9–24.
2. Oertli, B., et.al. Conservation and monitoring of pond biodiversity: introduction // Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 2005, V. 15. P. 535–540.
3. Мингазова Н.М. Эколого-токсикологическое изучение водоемов урбанизированных территорий (на примере озерной системы Кабан г. Казани). Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Свердловск, 1984. 21с.
4. Малинина Ю.А. Эколого-биологическая диагностика поверхностных вод крупного промышленного центра. Автореферат... дисс. канд. биол. наук, Самара, 1999. 22 с.
5. Макеев И.С. Особенности видовой структуры зоопланктона озер урбанизированных территорий как показатель антропогенной нагрузки (на примере водоемов г.Н.Новгорода). Автореферат дисс... канд. биол. наук, Н.Новгород, 1999. 21 с.
6. Герасимов Ю.Л., Ефимов Е.В. Планктонные ракообразные прудов Ботанического сада г. Самара // Экологическая безопасность городов: проблемы решения на муниципальном уровне. Мат Всеросс. н-пр. конф. 16-19 мая 2000 г. Самара, 2000. С. 60-61.
7. Герасимов Ю.Л., Сятищев А.Н. Мониторинг санитарного состояния водоемов г. Самара по планктонным ракообразным // Актуальные вопросы мониторинга экосистем антропогенно-нарушенных территорий. Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции 13-15 декабря 2000 г. Ульяновск, 2000. С. 44-45.
8. Синицкий А.В. Особенности структурной организации зоопланктоценозов малых водоемов урбанизированных территорий. Дисс. ... канд.биол. наук. Самара, 2004. 167 с.
9. Мухортова О.В. Сообщества зоопланктона пелагиали и зарослей высших водных растений разнотипных водоемов средней и нижней Волги. Дисс. ... канд. биол. наук. Тольятти: ИЭВБ, 2008. 126 с.
10. Герасимов Ю.Л. Коловратки прудов урбанизированных территорий (г. Самара) // Известия Самарского научного центра РАН. 2009, Т.11, № 1. С. 171-176.
11. Герасимов Ю.Л., Теньгаев Е.И. Ракообразные прудов урбанизированных территорий (г. Самара) // Известия Самарского научного центра РАН. 2009, Т.11, № 1 (4). С. 699-701.
12. Шабанова А.В. Современное состояние прудов Самары. Пруд у Ипподрома // Региональное развитие: электронный научно-практический журнал. 2016. № 2 (14). <http://regrazvitie.ru> Землеустройство и кадастры regrazvitie@yandex.ru. Дата обращения 17.04.2018.
13. Жадин В.И. Методы гидробиологического исследования. М.: Высшая школа, 1960. 189 с.
14. Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. СПб.: Гидрометеоиздат, 1992. 246 с.
15. Кутикова Л.А. Коловратки фауны СССР. Л.: Наука, 1970. 744 с.
16. Кутикова Л.А. Бделлоидные коловратки фауны России. М.: ТНИ КМК, 2005. 315 с.
17. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Т.2. Ракобразные. СПб: ЗИН, 1995. 627 с.
18. Семенова Л.М. Каталог Ostracoda (Crustacea) пресных водоёмов России и сопредельных государств. Нижний Новгород, 2007. 148 с.
19. Тимохина А.Ф. Зоопланктон как компонент экосистемы Куйбышевского водохранилища. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2000. 193 с.
20. Фролова В. Д., Герасимов Ю. Л. Планктонные ракообразные пруда в парке культуры и отдыха им. 30-летия Победы города Самары // Экологический сборник 5. Труды молодых ученых Поволжья. Международная конференция. Тольятти, ИЭВБ РАН. Тольятти: Кассандрा. 2014. С. 378-383.
21. Ибадулаева Р.А., Каримова К.А., Герасимов Ю.Л. Ракообразные прудов на территории санатория-профилактория в г. Самаре в 2016 г. // Актуальные вопросы современной науки. Сборник статей по материалам VIII международной научно-практической конференции (16 декабря 2017г., г. Томск). В 4 ч. Ч.1 / – Уфа: Изд. Дендра, 2017. С. 23-28.
22. Попов А.И. Современная структура зоопланктона Саратовского водохранилища и экология бионивазийных видов. Дисс.... канд. биол. наук. Тольятти, 2007. 101 с.
23. Герасимов Ю.Л., Тарасова Н.Г. Ракообразные, коловратки и фитопланктон пруда в парке им. Ю.Гагарина г. Самары // Известия ПГПУ, 2011. №25. С. 516-522.
24. Герасимов Ю.Л., Синицкий А.В., Киреев А.В. Зоопланктон как показатель состояния экосистемы пруда в г.Самаре // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем.

Материалы X всероссийской научно-практической конференции с международным участием 4-5 декабря 2012. К.1. Киров: ВГГУ, 2012. С. 159-162.

25. Отчет о научно-исследовательской работе. Составление комплексного кадастра искусственных водоемов города Вологда с целью оптимизации их рекреационного использования. Вологда, 2010. 203 с.

26. Герасимов Ю. Л. Ракообразные пруда парка Победы г. Новокуйбышевска // Природа Симбирского Поволжья. Сб.н.трудов. Вып.15. Ульяновск, 2014. С.114-121.

27. Алешина О.А., Мачульская Т.В. Характеристика планктонных сообществ малых

водоёмов урбанизированных территорий // IX съезд Гидробиологического общества РАН (г. Тольятти, Россия, 18 – 22 сентября 2006 г.). Тезисы докладов. Т.1 Тольятти: ИЭВБ РАН, 2006. С.15.

28. Герасимов Ю.Л., Кленова Н.А., Орлова С.А. Аэробная и факультативно аэробная микробиота городских водоёмов // Поволжский экологический журнал, 2016. № 1.С. 41 — 49.

29. Шабанова А.В. Экологическая безопасность рекреационных объектов, включающих пруды // Национальная безопасность и стратегическое планирование. 2015. № 3(11). С.122-127.

CHEMICAL SCIENCES

A COMPARISON OF CARBON-CONTAINING AND CLAY SORPTION MATERIALS AND (NANO)COMPOSITES BASED ON THEM

Kyrii S.

*Assistant, The Department of The Technology of Inorganic Substances,
Water Purification and General Chemical Technology,*

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Tyvonenko A.

*Student, The Department of The Technology of Inorganic Substances,
Water Purification and General Chemical Technology,*

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Kosogina I.

*Assistant professor, PhD., The Department of The Technology of Inorganic Substances,
Water Purification and General Chemical Technology,*

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Dontsova T.

*Assistant professor, PhD., The Department of The Technology of Inorganic Substances,
Water Purification and General Chemical Technology,*

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Astrelin I.

*Professor, Doctor of Technical Sciences, The Department of The Technology of Inorganic Substances,
Water Purification and General Chemical Technology,*

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Melnichuk O.

*Research officer, Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry
the National Academy of Sciences of Ukraine*

Abstract

This paper presents a comparative study different in nature and structure sorption materials, namely, carbon-containing, clay sorption materials and nanocomposites based on them. All sorption materials were characterized by scanning electron microscopy, adsorption-desorption of nitrogen, and their surface properties, such as zero-charge point and cation and anion exchange capacity, were determined. It is shown that carbon-containing sorption materials (both in raw form and after modification) belong to microporous sorption materials, and clay-containing sorbents and nanocomposites based on them are mesoporous. Investigation of surface properties of carbon-containing materials indicates their basicity, while clay-containing materials show increasing the acidity of the surface of the native clay. The study of the sorption properties of carbon-containing and clay materials with respect to cationic and anionic dyes in the range of low concentrations has shown that nanocomposites based on them are perspective materials.

Keywords: carbon-containing sorbents, clay sorption materials, nanocomposites, dyes, adsorption

1. Introduction

The dyes production is associated with the use of a huge amount of water, a significant portion of which was previously discharged into the environment without pre-treatment. On average, 1 ton of the dye consumes about 225 tons of water. This leads to the formation (in case of absence of treatment facilities) of water wastes in tens and hundreds of tons, which contain various mineral and organic compounds that break the oxygen regime of water bodies, and also have a toxic effect on flora and fauna [1-3].

Discharge of untreated industrial sewage contaminated with organic dyes into natural basins worsens the water sanitary measurements. First of all, organoleptic indicators deteriorate; the water gets an extraneous color and an unpleasant after-taste. Biotransformation of dyes in the natural environment can occur with the growth of their toxicity, which affects banefully the inhabitants of aquatic ecosystems: animals, birds, fishes.

Harmful and toxic substances enter the human body by way of a food chain.

The ideal way to get rid of polluted wastewater is to organize non-waste production when all compounds are used. This is a very difficult task, therefore during a certain period of time, the dye's production will not become non-waste. Proceeding from this, the solution to this problem is to treat wastewater to such an extent when they can be returned to the production cycle. If this is not possible or economically inexpedient, these waters should be brought to such a degree of purity that discharging them into natural water bodies will not damage the nature.

Of the known wastewater treatment methods, the most interesting are those that allow the extraction of substances contained in wastewater for their further use. It can be extraction, sorption, ion exchange, reverse osmosis and other methods [4-8]. Among these

methods, sorption has a great perspective as post-treatment methods, which are distinguished by their simplicity of organization and low cost [9-11]. However, the use of traditional sorbents, such as activated carbon, natural clay minerals, and others, does not always allow to remove the dyes completely [12-14]. Because of this, such wastewater containing small amounts of dyes cannot be fed to biological treatment, since during their aeration in biological treatment plants activated sludge can swell, which disrupts the operating mode of the aeration tanks [15]. In addition, many dyes during biological treatment undergo only nonadvanced transformations. As a result, there is a need to create new materials that would be much more effective than traditional sorption materials. According to own researchers and literature data, such materials can be modified traditional sorbents or composites (nanocomposites) based on them [16-18].

Thus, the purpose of this work was to create composites based on activated carbon and clay minerals (saponite), to study their structural-adsorption characteristics and to compare sorption properties when removing dyes at low concentrations.

2. Experimental

2.1. Carbon-containing and clay sorption materials

The birch activated carbon (BAC) and a nanocomposite based on it were used as carbon-containing sorbents. The synthesis procedure is presented in [19]. Homogeneous chemical deposition of zirconium salt on activated carbon followed by thermal treatment of the resulting precipitate was at the heart of the synthesis. This composite contained up to 30% of nanostructured zirconium oxide. Also, the rank of active carbon F300 and its composite, modified by the method of its impregnation with iron oxides, obtained from secondary raw materials (red mud of alumina production) were used. The method of preparation of such a composite is given in [20].

Clay sorption materials were sorbents based on saponite of Ukrainian origin: directly native clay and nanocomposites with its participation. The first clay-containing nanocomposite was synthesized by the method of impregnation of native clay with a magnetic fluid [21]. The third and fourth by the method of seepage of native saponite clay with a magnetic fluid and micro-dispersed and nano-dispersed molybdenum disulfide, respectively, whose characteristics are described in [22].

The phase composition and names of all sorbents samples are given in Table 1.

Table 1

Sorption materials

Nº	Sample description	Sample names	Phase composition
1	The birch activated carbon (BAC)	AC	100 % AC
2	The activated carbon–zirconium(IV) oxide	AC-ZrO ₂	71,5 % AC 28,5 % ZrO ₂
3	The activated carbon (Filtrosorb)	F300	100 % AC
4	The activated carbon (Filtrosorb) modified with iron oxides	F300/Fe _x O _y	90 % AC 10 % Fe _x O _y
5	Saponite clay	Sp	100 % native saponite clay
6	Saponite clay modified by magnetite	Sp/Fe ₃ O ₄	93 % native saponite clay 7 % Fe ₃ O ₄
7	Saponite clay modified by magnetite and micronic molybdenum disulphide	Sp/Fe ₃ O ₄ / <i>m</i> -MoS ₂	92 % native saponite clay 7 % Fe ₃ O ₄ 1 % micro MoS ₂
8	Saponite clay modified by magnetite and nanodispersed molybdenum disulphide	Sp/Fe ₃ O ₄ / <i>n</i> -MoS ₂	92 % native saponite clay 7 % Fe ₃ O ₄ 1 % nano MoS ₂

2.2. Characterization of sorption materials

The morphologies of the synthesized composite sorbents were observed using a scanning electron microscope (SEM 106 M). Determination of structural-adsorption characteristics of the investigated materials was carried out by the method of isothermal adsorption/desorption of nitrogen at a boiling point of nitrogen ($T = 77$ K) on Quantachrome Autosorb (Nova 2200e). The surface areas were calculated through the Langmuir and Brunauer-Emmett-Teller (BET) equations. The micropore volume V_{micro} and the external surface area S_t were identified from the t-plot method. The

value of total pore volume V_{total} was estimated from the maximum adsorption at relative pressure close to the saturation pressure. The pore size distribution of mesopore and micropore was determined from the BJH (Barret-Joyner-Halenda) and Dubinin-Radushkevich method, accordingly.

2.3. Characteristics of dyes

To study the adsorption properties of sorbents of different nature, aqueous solutions of cationic (methylene blue) and anionic (kongo red) dyes were used. The characteristics of dyes are presented in Table 2.

Table 2

Dye	Structural formula	Nature dye	D, nm
Methylene blue		cationic	1,30
Kongo red		anionic	2,52

Using the program Hyperchem, 3d models of the dyes molecules were constructed and their geometric optimization was carried out (Fig. 1). The characteristic

size of the molecule (D in Table 2) was taken to be its largest linear size [23].

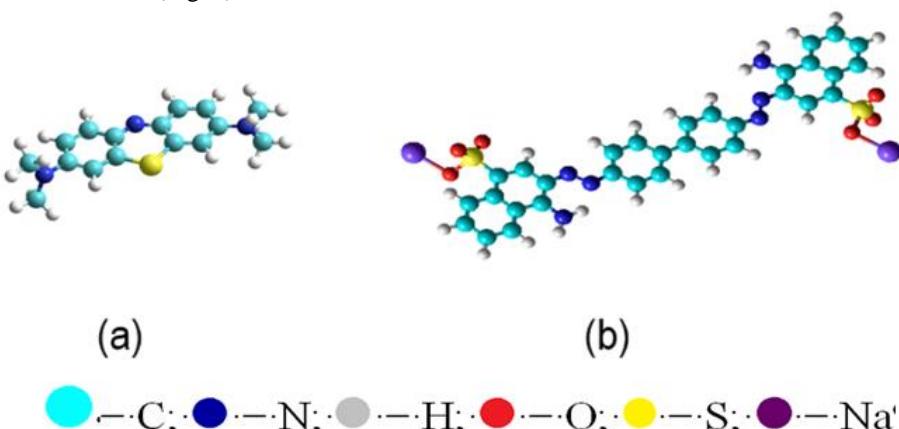


Fig.1. 3D models of dyes molecules: a - methylene blue; b - kongo red.

2.4. Method of determining zero point charge and cationic, anion exchange capacity

To determine the value of the zero point charge (ZPC), solutions of 0.1 M KCl with pH values of 2 to 10 were used. All solutions were prepared using bidistilled water. To the resulting solutions, sorbents samples were added, shaken for 4 hours and left for 24 hours. After the settling process, the filtrate was carefully transferred to a potentiometric cell of a pH meter and the concentration of hydrogen ions was determined. Based on the difference of pH before and after adsorption (pH_0 and pH_f), a change in the acidity of the medium (ΔpH) was calculated. Then a dependency graph of ΔpH versus pH_0 was plotted, at which the point of intersection of the line with the abscissa axis corresponded to the value of ZPC. The determination of the cationic static exchange capacity (CSEC), the anionic static exchange capacity (ASEC) was carried out using the Bem's method [24]. Cationic and anionic static exchange capacities ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) were determined using the following formula:

$$SEC = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{1000 \cdot m}, \quad (1)$$

where C_0 and C_e are the initial and equilibrium concentrations of the solution used for neutralization.

(mg/l); V is a volume of solution used for neutralization (ml); m – sample of sorbent (g).

2.5. Adsorption procedure

Comparative analysis of sorption properties of all samples was carried by constructing of adsorption isotherms of dyes removal of methylene blue and kongo red at low concentrations. The choice of such concentrations is due to the necessity for the determination of sorption capacity at the post-treatment.

For sorption studies, a series of 250 mL glass flasks were filled with 100 mL of model wastewater solution of different initial contaminant concentrations ($1\text{--}10 \text{ mg L}^{-1}$). A fixed amount of sorbent material (0.1 g) was added into each flask and stirred (350 rpm) for 5 hours at thermostatic water bath shaker ($20\pm2^\circ\text{C}$) to ensure complete sorption equilibrium. After adsorption, spent sorption materials were separated by centrifugal separation. The equilibrium concentrations of dyes in the solutions after adsorption treatment were determined by the photometric method using UV-5800PC Spectrophotometer. The equilibrium adsorption capacities (Q_e) were calculated according to the following formula [25]:

$$Q_e = \frac{(C_e - C_0) \cdot V}{m}, \quad (2)$$

where C_0 and C_e are initial and equilibrium concentration of dye in solution, respectively, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; V is model solution volume, L ; m – mass of sorbent sample, g.

3. Results and discussion

3.1. Characterization of sorption materials

The SEM images of composite samples AC-ZrO₂, F300/Fe_xO_y, Sp/Fe₃O₄ are shown in Fig. 2. Images of matrices, as well as composites based on clay and magnetite with molybdenum disulfide, were not shown because of their prevalence in the literature (in the case of matrices) and being inappropriate because of its presence in small quantities (in the case of composites with molybdenum disulfide).

The image of the sample AC-ZrO₂ described in Fig. 2(a) shows that the zirconium (IV) oxide aggregates are evenly distributed over the surface of the activated carbon and have a size in the range 1-100 μm . In addition, ZrO₂ forms polydisperse aggregates of irregular shape, that is typical to the thermal synthesis method. According to the image of the sample F300/Fe_xO_y (Fig. 2(b)), the iron oxide aggregates are uniformly distributed on the surface and within the pores of activated carbon which has a size of about 50 μm . The obtained SEM images of the Sp/Fe₃O₄ sample (Fig. 2(c)) show that the magnetite on the surface of saponite particles deposited nonuniformly. Uneven subsidence of magnetite on saponite is associated with the heterogeneity of the structure of natural clay.

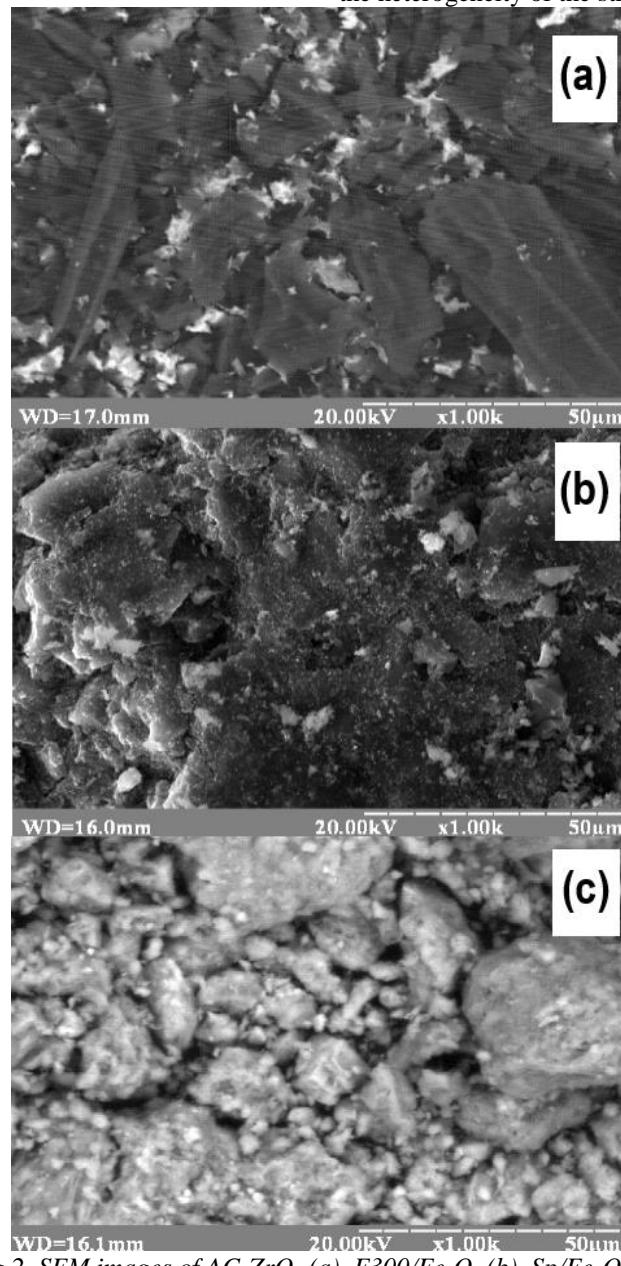


Fig.2. SEM images of AC-ZrO₂ (a), F300/Fe_xO_y (b), Sp/Fe₃O₄ (c).

3.2. Adsorption-desorption

Figure 3 shows adsorption-desorption isotherms for nitrogen for carbon-containing sorbents. As can be seen from the figure, all presented isotherms are referred to Type I (according to the International Union

of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) classification). Thus, all carbonaceous sorbents are microporous materials. However, the sorbents based on BAC, all the same, have a small mesoporosity as indicated by a small hysteresis in the region P/P₀ about 0.5-0.95. The

structural-sorption characteristics of these sorbents are given in Table 3.

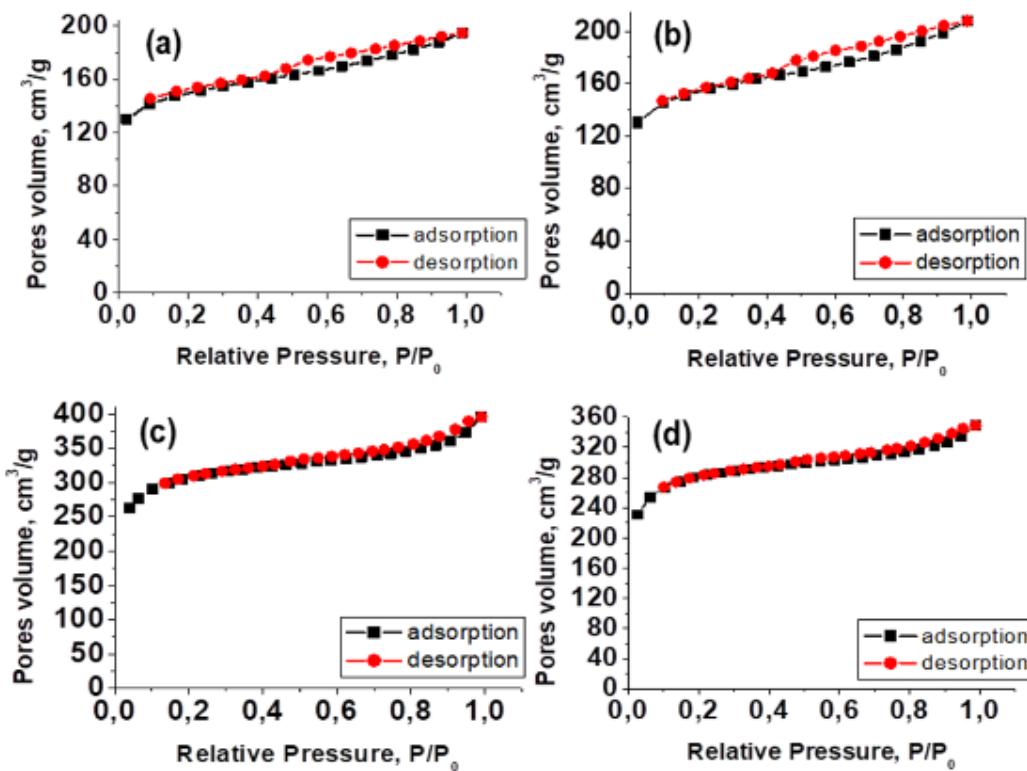


Fig.3. Nitrogen adsorption–desorption isotherms for AC (a), AC-ZrO₂ (b) F300 (c), F300/Fe_xO_y (d).

As can be seen from the Table 3, carbon-containing sorbents are characterized by high specific surfaces. Wherein, the BAC specific surface in the case of modification with zirconium oxide increases slightly (from 860 m²/g to 917 m²/g), and in the case of modification of F300 with iron oxides decreases

(from 1663 m²/g to 1491 m²/g). The diameter of micropores for all carbon sorption materials is approximately the same and is in the range 1.32-1.46 nm. However, the volume of micropores for sorbents based F300 and BAC varies: for F300 it is almost 2 times larger than for sorbents with BAC, which causes the difference in specific surfaces.

Table 3

Characteristics of the porous structure of sorbents samples								
Parameter	AC	AC-ZrO ₂	F300	F300/ Fe _x O _y	Sp	Sp/Fe ₃ O ₄	Sp/Fe ₃ O ₄ /m- MoS ₂	Sp/Fe ₃ O ₄ /n- MoS ₂
Surface area R ²	Langmuir 0.995	Langmuir 0.994	Langmuir 0.995	Langmuir 0.997	BET	BET	BET	BET
S, m ² /g	860	917	1663	1491	35	54	57	59
V-t method								
R ²	0.903	0.908	0.930	0.912	0.932	0.917	0.980	0.968
S _{Ext} , m ² /g	43	74	103	89	7	9	10	12
DR method								
R ²	0.789	0.775	0.85	0.86				
Micropore volume, cm ³ /g	0.268	0.284	0.534	0.483	-	-	-	-
Mesopore vol- ume, cm ³ /g	-	-	-	-	0.012	0.08	0.087	0.119
Average pore diameter d, nm	1.40	1.46	1.40	1.32	4.36	3.88	4.13	3.24

Figure 4 shows adsorption-desorption isotherms for nitrogen for clay sorbents and composites based on them. According to the IUPAC classification, the isotherms of clay-containing sorbents belong to type IV (with the presence of a hysteresis loop in the P/P_0 range from 0.4 to 1.0, associated with capillary condensation taking place in mesopores). Thus, these sorbents are characterized by a mesoporous structure, with the average pore diameter in the range of 3.24–4.36 nm, as can

be seen from Table 3. In addition, an increase in the specific surface area of native saponite ($35 \text{ m}^2/\text{g}$) can be observed when it is modified with both magnetite ($54 \text{ m}^2/\text{g}$) and magnetite with molybdenum disulfide in both cases in a microdisperse ($57 \text{ m}^2/\text{g}$) and nanodisperse ($59 \text{ m}^2/\text{g}$) condition. Also, with the saponite modification, the volume of mesopores grows, which causes an increase in the specific surface area.

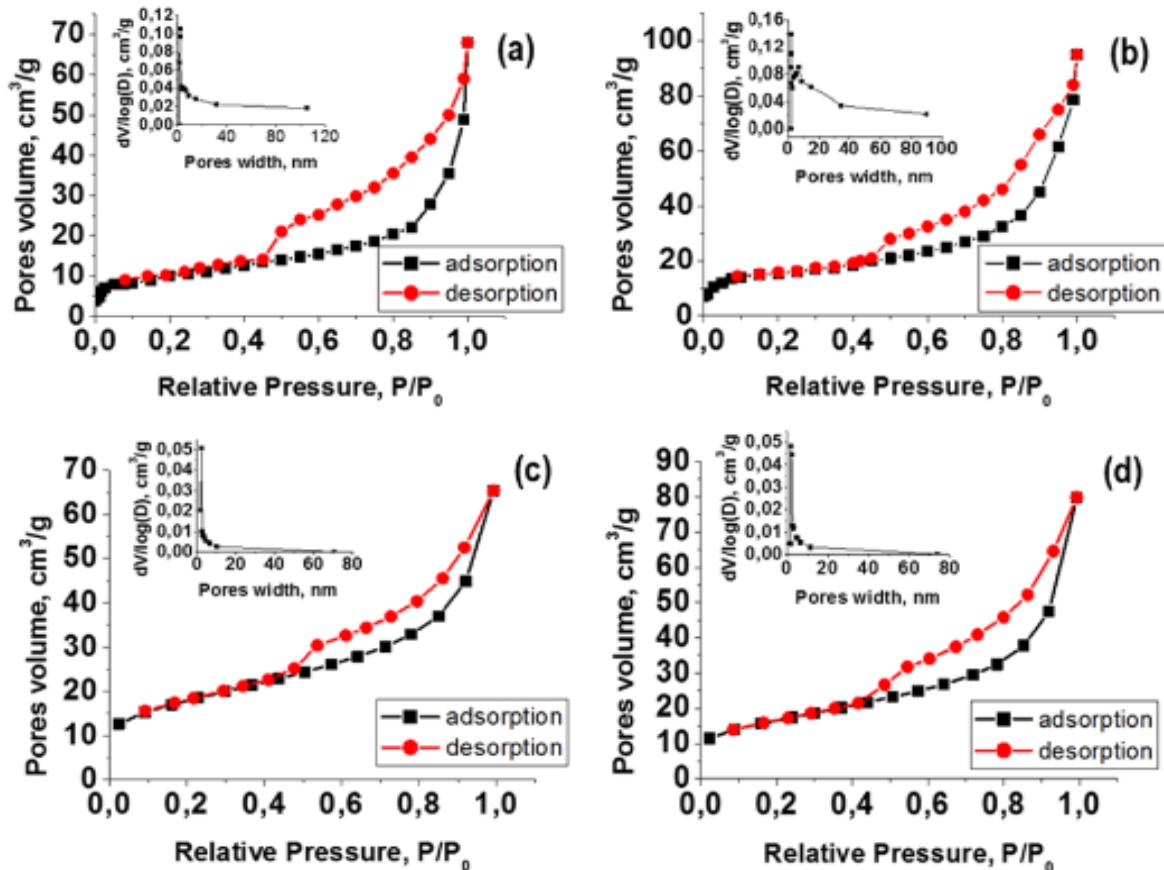


Fig.4. Nitrogen adsorption–desorption isotherms and pore size distribution plots for Sp (a), Sp/Fe₃O₄ (b), Sp/Fe₃O₄/m-MoS₂ (c), Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ (d).

3.3. Surface properties

The surface properties of all studied sorption materials, such as the zero point charge (ZPC), cationic (CSEC) and anionic (ASEC) static exchange capacities are shown in Table 4.

According to the presented data, in pure carbon-containing sorbents, ZPC is close to neutral pH. When BAC is modified with zirconium oxide, ZPC is significantly reduced (from 7.1 to 2.9). Modification of F300 also leads to a decrease ZPC however not significantly (Table 4).

The ZPC of native clay is also in the neutral area. The modification of clay by magnetite and molybdenum disulfide increases ZPC from 7.1 to 7.2 for Sp/Fe₃O₄ and to 7.7 for Sp/Fe₃O₄/m-MoS₂, and for Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ to 8.5.

Based on these data, it becomes evident that in aqueous solutions close to pH 7, the initial carbon materials, the F300/Fe_xO_y composite, the initial saponite clay and the nanocomposite based on it Sp/Fe₃O₄, have surface charge close to zero. And only the AC-ZrO₂ nanocomposite is negatively charged in the neutral medium, and the three-phase nanocomposites Sp/Fe₃O₄/m-MoS₂ and Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ are positive.

Table 4

Sorbent sample	Surface properties of sorption materials		
	Zero point of charge (ZPC)	Cationic static exchange capacity (CSEC, mg·g ⁻¹)	Anion static exchange capacity (ASEC, mg·g ⁻¹)
AC	7.1	0.24	0.42
AC-ZrO ₂	2.9	0.31	0.88
F300	7.5	0.25	0.77
F300/Fe _x O _y	6.8	0.30	0.50
Sp	7.1	0.41	0.42
Sp/Fe ₃ O ₄	7.2	0.45	0.41
Sp/Fe ₃ O ₄ /m-MoS ₂	7.7	0.48	0.41
Sp/Fe ₃ O ₄ /n-MoS ₂	8.5	0.82	0.42

The exchange capacitances shown in Table 4 by cations and anions of samples of carbon-containing sorbents indicate that the nature of their surface is predominantly basic. However, it should be noted that the modification of carbon, in this case, leads to an increase in the cation exchange capacity (from 0.24-0.25 to 0.30-0.31 mg·g⁻¹) and to an ambiguous effect on the anionic exchange capacity (in the case of modification of AC by zirconium oxide, it increases in 2 times, and the modification of the F300 leads to its reduction in 3 times).

Modification of saponite clay leads to an increase in the acidity of its surface (CSEC increase from 0.39 to 0.82 mg·g⁻¹), however, its anion capacity practically does not change. The data obtained are consistent with the ZPC values.

3.4. Adsorption experiment

Fig. 5 shows sorption isotherms of methylene blue and kongo red on carbon-containing sorbents in the range of small concentrations of 1-10 mg/l. The choice of this range of dye concentrations is due to the following considerations. Wastewater, formed in textile enterprises, in its composition contain dyes of different

types, but in a concentration not exceeding 10 mg/l. This fact is connected with the impossibility of separation in the technological cycle of waters after dyeing, where the concentration of dyes reaches 100 mg/l, from drains after such operations as warm and cold triple washing. Also, general wastewater includes streams after special stages of fixing the dye on the surface of the material followed by a final two-time rinsing after each stage.

As can be seen from Fig. 5, the composite AC-ZrO₂ has a high affinity for both methylene blue and kongo red. As a result, these isotherms can be classified as type H and, according to the nature of the curves, they obey Henry's law. The high efficiency of sorption of AC-ZrO₂ with respect to methylene blue is due to electrostatic forces of attraction, and in relation to kongo red is due to high anion exchange capacity. Activated carbon BAC is characterized by the lowest affinity for these dyes because of the lower values of the cationic and anionic exchange capacity, and its isotherms correspond to type L2.

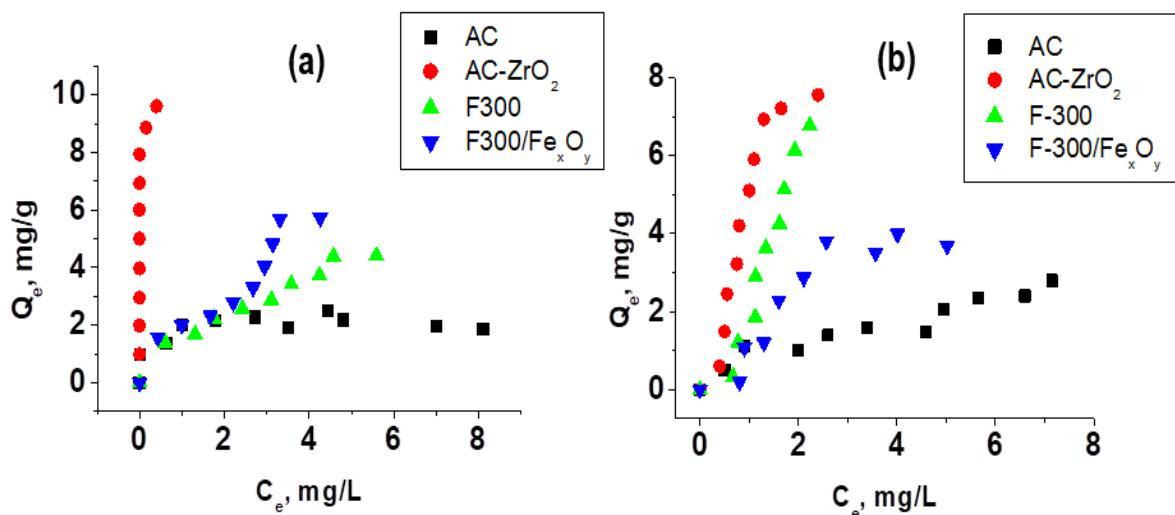


Fig.5. Adsorption isotherms for AC, AC-ZrO₂, F300, F300/Fe_xO_y toward to methylene blue (a) and kongo red (b).

The adsorption isotherms of dyes on the activated carbon F300 and the composite on its basis can be referred to type C, which is typical for adsorption on microporous adsorbents. The better adsorption capacity of the F300/Fe_xO_y composite to methylene blue compared

to F300 is due to its greater cationic capacity, and likewise, the greater sorption activity of F300 to kongo red is explained by the greater anion exchange capacity than its composite.

Thus, analyzing all isotherms showed in Fig. 5, it can be concluded that among the carbon-containing sorbents presented, the most effective for cationic and anionic dyes in the low-concentration region is the modified activated carbon with zirconium oxides, which is characterized by a high specific surface and micro-mesoporous structure, low ZPC, and sufficiently large cationic and anionic exchange capacities.

Fig. 6 shows adsorption isotherms for a series of clay sorption materials (for both initial clay and nanocomposites based on it). As can be seen from Fig. 6 all

adsorption isotherms of methylene blue on different samples of clay-containing materials have a similar character and belong to the type H, i.e. obey the law of Henry. In this case, the best removal of methylene blue is by the Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ nanocomposite, then Sp/Fe₃O₄ and Sp/Fe₃O₄/m-MoS₂, followed by saponite clay. The obtained results are primarily related to the cation exchange capacity of these materials, which also increase in the above order.

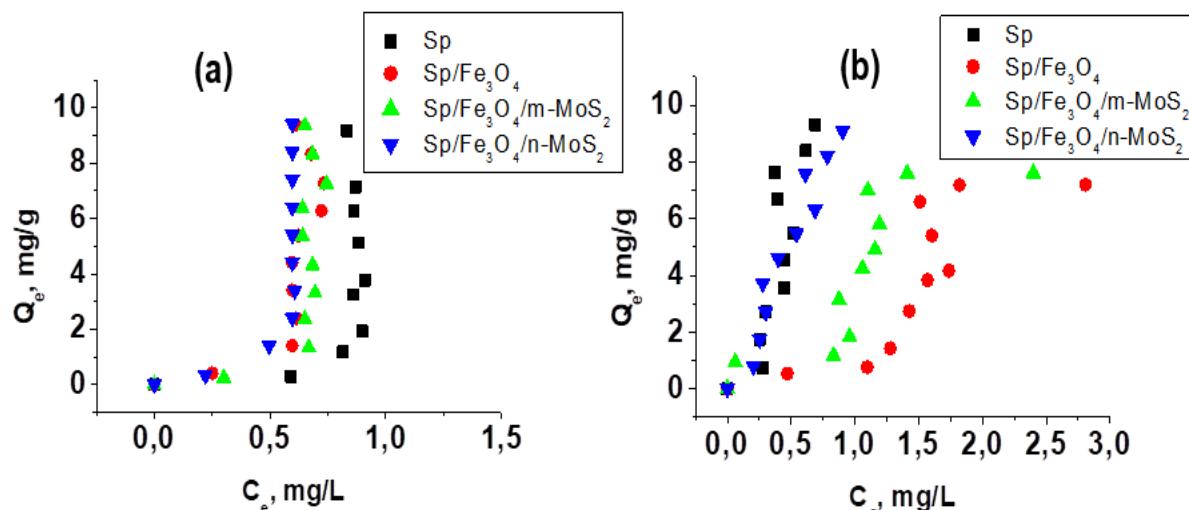


Fig.6. Adsorption isotherms for Sp (a), Sp/Fe₃O₄ (b), Sp/Fe₃O₄/m-MoS₂ (c), Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ toward to methylene blue (a) and kongo red (b).

The relatively high sorption activity of all materials is also observed with respect to kongo red, but in this case the most effective are saponite clay and Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂, which also agrees with the anion-exchange capacities

Analyzing the isotherms in the region of small concentrations of cationic and anionic dyes on clay-containing sorbents, it can be concluded that the most effective sorption material is native clay. Nevertheless, because of the colloidal dispersion degree of clay materials when they are used in sorption processes, they have an inherent drawback, namely the difficulty separating of used clay sorbents. To this end, they are modified, in particular, by magnetite for better extraction after the sorption process. Thus, the best among those considered is the nanocomposite clay sorbent Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂.

4. Conclusion

In this article, a comparative study of the structural-sorption and surface-adsorption properties of sorbents of different nature, such as carbon-containing, clay, and composites based on them was made. Structural-sorption properties indicate that carbon sorption materials, including those after their modification, are microporous structures with large specific surfaces. Clay sorbents, as well as nanocomposites based on them, are mesoporous materials, while the modification of native clay leads to an increase in the surface area and volume of mesopores. It is shown, that carbon-containing sorbents are the base materials, native clay is practically neutral material, and nanocomposites based on it are acidic sorption materials. Among the carbon-

containing sorption materials, the nanocomposite AC-ZrO₂ was the most promising for the removal of cationic and anionic dyes in the low-concentration range, and the Sp/Fe₃O₄/n-MoS₂ nanocomposite among the clay-based sorbents.

Acknowledgment

The authors wish to express their thanks to Water Harmony Erasmus+ Program, thanks to which part of the research results is possible.

REFERENCES:

1. E. Shakir, Z. Zahraw, A. Hameed, M. J. Al-Obaidy, Environmental and health risks associated with reuse of wastewater for irrigation, Egyptian Journal of Petroleum. 26 (1) (2017) 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.01.003>
2. C. Femina Carolin, P. Senthil Kumar, A. Saravanan, G. Janet Josiba, Mu.Naushad, Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: A review, Journal of Environmental Chemical Engineering. 5 (3) (2017) 2782–2799. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.05.029>
3. P. Välijalo, R. Massei, I. Heiskanen, P. Behnisch, W. Brack, A. J. Tindall, D. Du Pasquier, E. Küster, A. Mikola, T. Schulze, M. Sillanpää, Effect-based assessment of toxicity removal during wastewater treatment, Water Research. 126 (2017) 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.014>
4. S. Natarajan, H. C. Bajaj, R. J. Tayade, Recent advances based on the synergetic effect of adsorption for removal of dyes from waste water using photocatalytic process, Journal of Environmental Sciences. 65

- (2018) 201–222.
<https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.03.011>
5. S. Pandey, A comprehensive review on recent developments in bentonite-based materials used as adsorbents for wastewater treatment, *Journal of Molecular Liquids.* 241 (2017) 1091–1113. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.06.115>
6. P. Rajasulochana, V. Preethy, Comparison on efficiency of various techniques in treatment of waste and sewage water – A comprehensive review, *Resource-Efficient Technologies.* 2 (4) (2016) 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.refft.2016.09.004>
7. Y. Ying Ling, F. Bukhari, M. Suah, Extraction of malachite green from wastewater by using polymer inclusion membrane, *Journal of Environmental Chemical Engineering.* 5(1) (2017) 785–794. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.01.001>
8. I.G. Wenten, Khoiruddin, Reverse osmosis applications: Prospect and challenges, *Desalination.* 391 (2016) 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2015.12.011>
9. Yu. I. Tarasevich, Application of natural adsorbents and adsorption-active materials based thereon in the processes of water purification, *Studies in Surface Science and Catalysis.* 120 Part B (1999) 659–722. [https://doi.org/10.1016/S0167-2991\(99\)80375-9](https://doi.org/10.1016/S0167-2991(99)80375-9)
10. P. González-García, Activated carbon from lignocellulosics precursors: A review of the synthesis methods, characterization techniques and applications, *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 82 Part 1 (2018) 1393–1414. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.04.117>
11. V. Katheresan, J. Kansedo, S. Yon Lau, Efficiency of Various Recent Wastewater Dye Removal Methods: A Review, *Journal of Environmental Chemical Engineering.* 6 (2018) 4676–4697. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.06.060>
12. K. Vikrant, B. S.Giri, N. Raza, K. Roy, K.H. Kim, B. N. Rai, R. S.Singh, Recent advancements in bioremediation of dye: Current status and challenges, *Bioresource Technology* 253 (2018) 355–367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.029>
13. G. Z. Kyzas, E.A. Deliyanni, D. N. Bikiaris, A. C. Mitropoulos, Graphene composites as dye adsorbents: Review, *Chemical Engineering Research and Design.* 129 (2018) 75–88. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2017.11.006>
14. O. Makarchuk, T. Dontsova, A. Perekos, A. Skoblik, Y. Svystunov, Magnetic Mineral Nanocomposite Sorbents for Wastewater Treatment, *Journal of Nanomaterials.* (2017) 1–7. <https://doi.org/10.1155/2017/8579598>
15. B. E. Chistyakov, Theory and practical application aspects of surfactants, *Studies in Interface Science.* 13 (2001) 511–618. [https://doi.org/10.1016/S1383-7303\(01\)80067-3](https://doi.org/10.1016/S1383-7303(01)80067-3)
16. K. Rahimi, R. Mirzaei, A. Akbari, N. Mirghafari, Preparation of nanoparticle-modified polymeric adsorbent using wastage fuzzes of mechanized carpet and its application in dye removal from aqueous solution, *Journal of Cleaner Production.* 178 (2018) 373–383. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.213>
17. E. N. Zare, A. Motahari, M. Sillanpää, Nanoadsorbents based on conducting polymer nanocomposites with main focus on polyaniline and its derivatives for removal of heavy metal ions/dyes: A review, *Environmental Research.* 162 (2018) 173–195. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.12.025>
18. A. S. Adeleye, J. R. Conway, K. Garner, Y. Huang, Y. Su, A. A. Keller, Engineered nanomaterials for water treatment and remediation: Costs, benefits, and applicability, *Chemical Engineering Journal.* 286 (2016) 640–662. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.105>
19. Yu.M. Fedenko, T.A. Dontsova, I.M. Astrelin, Physicochemical and sorptive properties of nanocomposites based on zirconium(IV) oxide, *Chem. Chem. Technol.* 1 (2014) 51–55.
20. S.O. Kyrii, I.V. Kosogina, I.M. Astrelin, L.S. Obodenko, Investigation of the properties of activated carbon modified by wastes of alumina production, *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii.* 2 (2018) 70–78.
21. O. Makarchuk, T. Dontsova, A. Perekos, Magnetic nanocomposite sorbents on mineral base, *Springer Proceedings in Physics.* 195 (2017) 705–719. DOI [10.1007/978-3-319-56422-7_54](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56422-7_54)
22. T.A. Dontsova, L.M. Kulikov, I.M. Astrelin, Adsorption-photocatalytic properties of micronic and graphene (2D) nanoparticles of molybdenum dichalcogenides, *Journal of Water Chemistry and Technology.* 39 (3) (2017) 132–137. DOI: [10.3103/S1063455X1703002X](https://doi.org/10.3103/S1063455X1703002X)
23. I. Kosogina, I. Astrelin, G. Krimets, N. Vereshchuk, The process of wastewater treatment with advanced oxidation methods to remove dye, *Chemistry and Chemical Technology.* 8(3) (2014) 365–369.
24. I. A. Tarkovskaya, Oxidized Coal [in Russian], Naukova Dumka, Kiev (1981) 200.
25. O.V. Makarchuk, T.A. Dontsova, I.M. Astrelin, Magnetic Nanocomposites as Efficient Sorption Materials for Removing Dyes from Aqueous Solutions, *Nanoscale Research Letters.* 11(1) (2016) 161. DOI: [10.1186/s11671-016-1364-2](https://doi.org/10.1186/s11671-016-1364-2).

INDIVIDUAL FEATURES OF THE SELF-TOLERANCE LOSS IN VARIOUS CLINICAL MANIFESTATIONS OF MYASTHENIA GRAVIS AND THE RATIONALE FOR TREATMENT

Klimova E.

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V.T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Drozdova L.

Ph.D. in Biological Sciences, Senior Researcher, Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V.T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Lavinskaya E.

Ph.D. in Biological Sciences, Researcher, Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V.T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Minuchin D.

Ph.D. in Medical Sciences, associate Professor of the Department of Surgery N1 of Kharkiv National Medical University

Abstract

The similarity of the studied biomarkers (autoantibodies to $\alpha 1$ and $\alpha 7$ subunits of nAChR, autoantibodies to cell structures, antinuclear autoantibodies, C3 and C4 components of complement) of the mechanisms of self-tolerance loss in young patients with thymus-independent myasthenia (M) and in patients older age group with thymus-dependent myasthenia (MT) have been identified.

Keywords: thymus-independent myasthenia, thymus-dependent myasthenia, thymoma, autoantibodies, complement components.

Introduction

The study of the pathogenesis of myasthenia is relevant, which is determined by the most powerful argument - an undoubtedly increase in the number of patients from 3–5 people per 100 thousand population in the 70s of the last century to 20 – at present [1, p. 160; 2, p. 193; 3, pp. 222-223; 4, p. 414; 5, pp. 18-19]. Myasthenia is an autoimmune neuromuscular disease, clinically manifested in the form of weakness and pathological muscle fatigue [6, pp. 973-975]. In some patients, myasthenia is revealed to have structural-functional disorders in the thymus - the central organ of immunity [1, p. 174; 2, p. 157; 7, pp. 109-110]. In accordance with structural disorders of the thymus gland, myasthenia is divided into thymus-independent - without a defeat of the thymus, and thymus-dependent, which can occur on the background of thymic hyperplasia or accompanied by the presence of locally spread thymoma [8, p. 27].

Myasthenia is a classic autoimmune disease, the pathogenesis of which is associated with the production of antibodies to molecular targets of the neuromuscular synapse and muscle (nAChR, ryanodine receptors, tyrosine kinase MuSK receptors), and as shown by some authors, more rarely to postsynaptic antigens – LRP4, Agrin, ColQ and extrasynaptic antigenic proteins - titin, actin, filamin, actinin [9, p. 10-12; 10, p. 1045; 11, pp. 561-564]. In addition, in some patients with myasthenia, a number of antibodies are determined: to gangliosides, interleukin-12, interferon alpha-2, and others, whose role in the pathogenesis of myasthenia is still not precisely defined [12, pp. 154-157].

It is assumed that the cause of the diversity of autoantibodies is a violation of the positive selection of autoreactive lymphocytes and the presentation of its own antigens, resulting from an expression lack of the autoimmune regulatory gene (AIRE) and selective loss of T-regulatory cells [13, pp. 504-507]. A known factor in tissue alteration is the proteins of the complement system, the increase in opsonizing activity of which can lead to changes in peripheral antigenic structures.

Modern approaches to the treatment of myasthenia include the use of a standard therapeutic protocol, which includes anticholinesterase drugs, corticosteroids, plasma exchange; surgical treatment – thymectomy, thymomectomy [1, pp. 162-165].

Surgical removal of the thymus, which is both the source and target of autoimmune aggression, does not always allow you to get away from anticholinesterase drugs, and sometimes leads to the development of myasthenic or cholinergic crises, especially in older patients. Complex treatment of myasthenia is effective, but not always, only 45 % of patients have clinical improvements.

It is known that the debut of the disease in young patients can manifest itself in the form of myasthenic syndrome on the background of thymus-independent myasthenia. In young women under the age of 40, myasthenia gravis often develops on the background of thymic hyperplasia. The progression of the disease in patients of the older group can lead to the development of thymus-dependent myasthenia, occurring against the background of thymoma, and surgical intervention in

this category of patients does not give adequate clinical effect, and sometimes can lead to complications and death [1, p. 172; 8, p. 27].

It is necessary to search for specific biomarkers, with the help of which in patients with autoimmune myasthenia it is possible to predict the further course of the disease, including the formation of thymoma. These can be markers of the self-tolerance loss of central or peripheral genesis.

Materials and methods

98 patients with myasthenia were examined. The examined patients were divided into 3 groups: first group included 53 patients with thymus-independent myasthenia (M) without thymus damage between the ages of 14 and 72, of whom 31 were women and 22 were men; the second group of patients with thymus-dependent myasthenia with thymus hyperplasia (MH) was 17 patients aged from 20 to 40 years, all female patients; the third group with thymus-dependent myasthenia on the background of thymoma (MT) included 28 patients aged 21 till 68 years, from them 12 women and 16 men. For the differential diagnosis of clinical phenotypes of myasthenia, which can generally be classified as neurological sensory neuropathy, an algorithm for examining patients was used, including an assessment of central and peripheral mechanisms of self-tolerance loss.

To determine the main pathogenetic link in synaptic transmission disorder in myasthenia, the presence of antibodies to the $\alpha 1$ and $\alpha 7$ subunits of nAChR in blood serum was investigated using a test system for indirect enzyme immunoassay on solid-phase carrier. The method is based on the specific interaction of $\alpha 1$ and $\alpha 7$ nAChR, sorbed on a polystyrene plate, with autoantibodies to $\alpha 1$ and $\alpha 7$ nAChR contained in the studied serum. The resulting antigen-antibody complex was detected using a conjugate, the peroxidase of which catalyzes the cleavage of the substrate (hydrogen peroxide), causing a change in the indicator color. The intensity of staining is directly proportional to the content of antibodies to the $\alpha 1$ and $\alpha 7$ subunits of nAChR. Optical density measurement was performed at a wavelength of 450 nm on a Stat Fax 3200 immunoassay analyzer.

A comprehensive assessment of the presence and severity of polyclonal immunoactivation and immunosuppression was performed by an immunoenzymatic method for determining autoantibodies (AAbs) to antigens of various tissue systems of the body using ELI-Viscero-Test 24 test kits (manufactured by Immunculus, Russia). This method allows polyparametric determination of the serum content of AAbs. The serum samples revealed the relative content of IgG autoantibodies to 24 tissue and cellular antigens of the main human organs and systems: Fc – IgG immunoglobulin fragment (Fc), beta 2-glycoprotein I ($\beta 2$), membrane antigens of myocardial cells (Com), myocardial $\beta 1$ -adrenoreceptors (β AR), platelet membrane antigens (TrM), anion proteins of vascular endothelium (ANCA), cytoplasmic renal tissue antigens (KiS), membrane antigens of the renal tissue (KiM), membrane antigens of lung tissue (LuM), cytoplasmic lung tissue antigens (LuS), membrane antigens of gastric

mucosa cells (GaM), membrane antigens of small intestinal mucosa cells (ItM), cytoplasmic liver tissue antigens (HeS), hepatic mitochondrial antigens (HMMP), thyroglobulin (TG), TSH receptors (TSH-R), insulin (Ins), insulin receptors (Ins-R), membrane antigens of adrenal cells (Adr), membrane antigens of prostate cells and spermatozoa (Spr), protein S100 (S100), protein of astrocyte intermediate filaments (GFAP), basic protein myelin (MBP), native DNA (DNA). Low levels of antibodies to most or all tested antigens indicate a decrease in overall immunoreactivity.

At the next stage, in order to identify serum specific antibodies to nuclear structures (ANA) in all patients with thymus-independent (M) and thymus-dependent myasthenia (MH and MT), a multispecific screening test was performed by indirect quantitative ELISA testing. To do this, the diluted patient serum was incubated in the wells of a tablet coated with a mixture of purified antigens SS-A (52 kDa), SS-A (60 kDa), SS-B, RNP-70, Sm, RNP / Sm, Scl-70, Centromere B. Patient serum bound to specific antigens were identified using an enzyme conjugate containing antibodies against human IgG. Next, a substrate-chromogenic reagent was added to the wells, which is converted into a colored product under the influence of the enzyme component of the conjugate, peroxidase. To calculate the content of ANA in the serum of patients we used the formula with the standard containing a known amount of ANA (Reagent Kit ANA screen, Orgentec). In the case of obtaining a positive result of such a screening examination, an additional visual determination of the type of antinuclear antibodies and the nature of their binding to various peptide fragments of cell nuclei was performed using the indirect immunofluorescence method. The results were evaluated using a fluorescent microscope, taking into account the type of glow (Euroimmun reagent kit).

Determining the concentration of C3 and C4 complement fragments was performed using the FENOX Medical Solution (Bilorus) kits. The method is based on the interaction of the protein with specific antibodies with the formation of immunocomplexes, the precipitation of which leads to an increase in the turbidity of the solution at 340 nm in proportion to the concentration of the component of complement C3 and C4 in the sample. The concentration of C3 and C4 complement fragments was determined immunoturbidimetrically at a wavelength of 340 nm on a Stat-Fax 1904 biochemical analyzer.

Results and discussion

Autoantibodies to the $\alpha 1$ and $\alpha 7$ subunits of the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR). When examining patients with various clinical phenotypes of myasthenia in all groups – M, MH, MT revealed serum antibodies to the $\alpha 1$ subunit nAChR, which are, according to many authors, the main pathogenetic link in the loss of self-tolerance during myasthenia [9, pp. 8-12]. The maximum increase in AAbs to the $\alpha 1$ subunit of the nAChR was observed in the MH group and was 0.389 units E (at 0.180 units E in the control group). The concentration of AAbs to the $\alpha 7$ subunit of nAChR was increased only in 20% of young patients with M and in all elderly patients with MT.

Autoantibodies to antigens of the main human organs and systems. A further search for markers of self-tolerance loss revealed a wide range of organ-specific antibodies to additional targets in various clinical phenotypes of thymus-independent (M) and thymus-dependent myasthenia (MH, MT): to cellular organoids and specific proteins. For each clinical phenotype of myasthenia a characteristic specific repertoire of organ-specific antibodies was determined. In all three groups, an increase in the relative content of AAbs to thyroid

stimulating hormone receptors and thyreglobulin was detected (Fig. 1, 2, 3). The highest values of these indicators were found in the MH group: the rise in the relative content of AAbs to the TSH receptor was 84.7 %, and to thyroglobulin – 119.6 %. In patients with MH, the autoantibody spectrum was 2 times less than in the M and MT groups, and differed in the nature of antigenic targets: unique AAbs to insulin and a specific astrocyte protein were detected (Fig. 1).

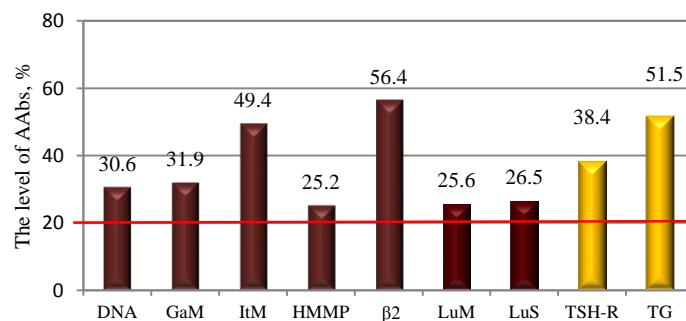


Fig. 1. Characteristic spectrum and concentration of AAbs in patients with thymus-independent myasthenia (M)

In patients with groups M and MT, additional targets for AAbs were identified that are identical in these groups: membrane antigens of gastric mucosa cells,

membrane antigens of small intestinal mucosa cells, liver mitochondria, $\beta 2$ -glycoprotein, membrane and cytoplasmic lung tissue antigens, DNA (Fig. 2, Fig. 3).

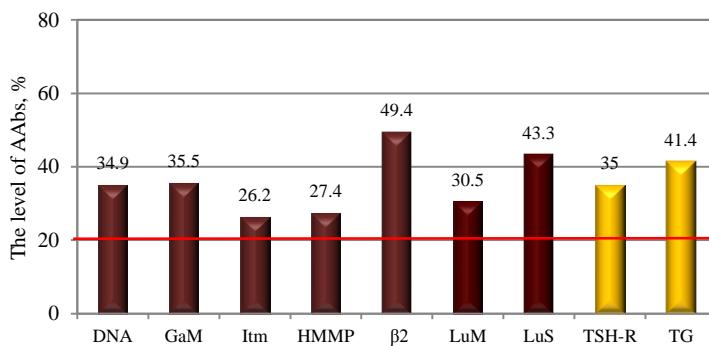


Fig. 2. Characteristic spectrum and concentration of AAbs in patients with myasthenia and thymoma (MT)

The increase in the relative content of AAbs to membrane antigens of small intestinal mucous membrane cells (ItM) and to $\beta 2$ -glycoprotein I was more pronounced in patients of group M and was 49.4 % and

56.4 %, respectively, and for DNA, membrane and cytoplasmic lung tissue antigens (LuM, LuS) in the MT group (Fig. 2, Fig. 3).

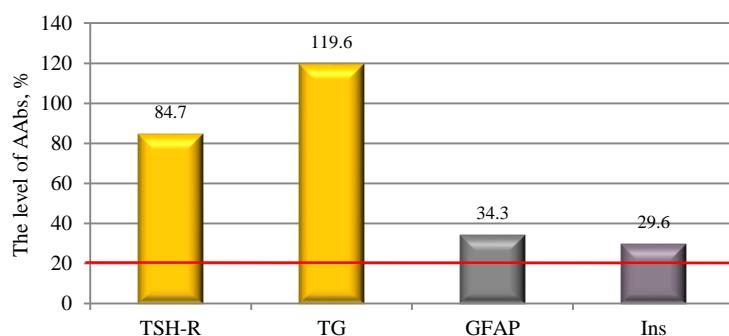


Fig. 3. Characteristic spectrum and concentration of AAbs in patients with myasthenia on the background of thymus hyperplasia (MH)

Anti-nuclear autoantibodies (ANA). Screening studies of antinuclear antibodies ANA revealed their

presence only in patients with thymus-dependent myasthenia on the background of locally distributed thymoma (MT), which was 4 times higher than the control level (and averaged 4.7 units E). The various components of the cell nucleus in these patients (with MT) were additional targets for autoantibodies. To visualize the nature of the binding of antinuclear antibodies immunofluorescence microscopy was used.

In elderly patients with thymomas, a centromeric type of luminescence was detected – discrete coarse-grained spots (centromeres): granules of small and approximately the same size (46 or 92 centromeres per core). In interphase cells, these granules are evenly distributed in the nucleus, whereas in mitotic cells they form a ribbon-like structure – one in the middle of the nucleus (at the metaphase stage) or two parallel (at the anaphase stage) (photo 1).

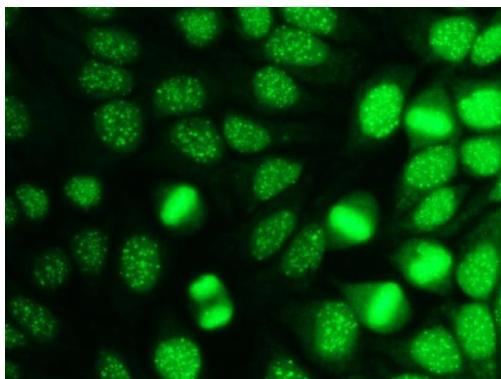


Photo 1. AAbs to chromosome centromeres in patient K., 37 years old with thymoma (MT) (FITC staining of standard antigenic substrates Hep2 after interaction with serum antibodies).

It is known that many systemic diseases are characterized by the formation of immune complexes with various components of the nucleus, chromatin and proteins. This type of autoantibody causes tissue damage. Anti-nuclear antibodies (ANA) can be detected against polynucleotides, ribonucleotides, histones and other nuclear agents. It is known that a high titer of autoantibodies ANA is characteristic of mixed diseases of connective tissue. In rheumatoid and pseudorheumatoid diseases, antibodies against histones are formed, in systemic sclerosis, scleroderma antibodies are detected against certain proteins (fibrillarin and RNA polymerase) and against centromeres of chromosomes, to the Golgi apparatus, titin, vimentin. SS-a antibodies are detected in billiard cirrhosis and autoimmune hepatitis. Antibodies to mitochondria are detected with cirrhosis and polymyositis. High titers of autoantibodies against U1-nRNP are characteristic of mixed connective tissue diseases. The diagnostic value of determining the level of autoantibodies associated with mitosis has not been established.

Concentration of C3- and C4 complement components. In patients with various mechanisms of central and peripheral self-tolerance loss, the concentration of the C3 fragment of complement – the activator of the alternative pathway of complement activation and the concentration of the C4 fragment of complement involved in the classical pathway of activation of the

AAbs was also detected for the centromeric protein F (CTNPF), as evidenced by the binding pattern of the patient's serum antibodies to the standard antigenic nuclear substrate HEP-2 – a motley nuclear pattern with pronounced intensity variation with the strongest staining in the G2 phase and weak, as well as negative staining in the G1 phase of the cell cycle. Centromeres are positive only in prometaphase and metaphase, and are visible on the preparation in the form of several small and weak points of the same size. Prometaphase cells show weak staining of the nuclear membrane. During anaphase and telophase, intense staining is observed in a ring located in the middle zone, where the separation of daughter cells occurs. The surrounding cytoplasm of mitotic cells is diffusely colored (photo 2).

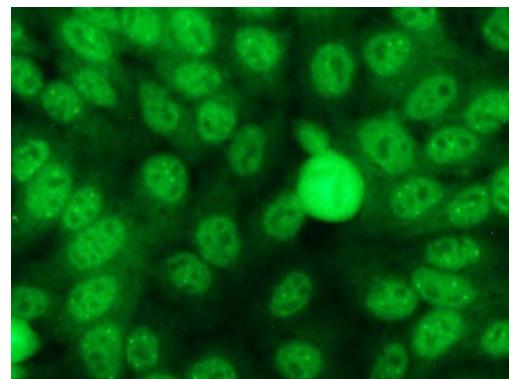


Photo 2. AAbs to the centromere (CTNPF) in patient N., 67 years old with thymoma MT (FITC staining of standard antigenic Hep2 substrates after interaction with serum antibodies)

complement system – were investigated. The concentration of the C3 component of complement was at the level of control values in the M and MH groups, and slightly higher (by 20 %) in the MT group. The concentration of the C4 component of complement in the M and MH groups was higher than the control by 10 % and 20 %, respectively, and in the MT group – lower than the control by 5 %.

Thus, they revealed the presence of similarities in additional mechanisms of self-tolerance loss in young patients with M and in patients with MT of the older age group in the biomarkers studied. Myasthenia gravis is a clinically heterogeneous disease with a pronounced polymorphism of etiological and pathogenetic factors that determine the age debut, severity, development of remission or exacerbation of the disease.

Conclusion

1. In all examined patients with thymus-independent (M) and thymus-depend myasthenia (MT and MH), the main pathogenetic factor of myasthenia and antibodies to the $\alpha 1$ subunit of nAChR, was detected. The maximum value of antibodies of this type was found in patients with thymus hyperplasia (MH), which was 2.5 times higher than the control value.

2. In some young patients (20 %) with thymus-independent myasthenia (M) and in all patients with MT,

a high titer of antibodies to the $\alpha 7$ subunit of nAChR was detected.

3. Organospecific antibodies in patients with myasthenia on the background of thymus hyperplasia (MH) had other cellular targets and were represented by the following localization: AAbs for insulin protein and a specific protein for astrocytes.

4. In patients with thymus-independent myasthenia (M) and with thymus-dependent myasthenia, on the background of thymoma (MT), identical additional targets for autoantibodies were found: membrane antigens of gastric mucous membrane cells, membrane antigens of mucous membrane cells of the small intestine, liver mitochondria, $\beta 2$ -glycoprotein, membrane and cytoplasmic lung tissue antigens and DNA.

5. In all examined patients with thymus-independent myasthenia (M) and with thymus-dependent myasthenia, antibodies against DNA were detected against the background of thymoma (MT). The highest titer of antibodies to DNA was detected in patients with myasthenia on the background of thymoma.

6. Further search for additional autoimmune targets revealed only in patients of the MT group the presence of specific antinuclear antibodies – to centromeres and centromeric protein F.

7. The prognosis of myasthenia progression and development of remission can be made using the identified markers of self-tolerance loss.

REFERENCES:

1. Миастения: Диагностика и лечение. / Под. Ред. Лобзина С.В.. – С.-П.: СпецЛит, 2016. – с. 220.
2. Кузин М.И., Гехт Б.М. Миастения. – М.: Медицина. – 1996. – 224 с.
3. Kalb B., Matell G., Pirskanen R., Lambe M. Epidemiology of myasthenia gravis: A population-based study in Stockholm, Sweden // Neuroepidemiology. – 2002. – Vol. 21 (5). – P. 221-225.
4. Mantegazza R., Baggi F., Antozzi C., Confalonieri P., Morandi L., Bernasconi P., Andreotta F., Simoncini O., Campanella A., Beghi E., Cornelio F. Myasthenia gravis (MG): epidemiological data and prognostic factors // Ann NY Acad Sci. – 2003. – Vol. 998. – P. 413-423.
5. Phillips L.H. The epidemiology of myasthenia gravis // Semin Neurol. – 2004. – Vol. 24. – P. 17-20.
6. Lennon V. A., Seybold M. E., Lindstrom J. M. et al. Role of complement in the pathogenesis of experimental autoimmune myasthenia gravis. J Exp Med 1978; 147:973–83.
7. Мурзалиев А.М., Мусабекова Т.О., Усенова Н.Ш. Миастения (обзор литературы) // Вестник КРСУ. 2015. Том 15. № 11. – С.109 -112.
8. Klimova E., Bozhkov A., Avdosyev Yu., Drozdova L., Lavinskaya E., Boyko V. Myasthenogenic markers indifferent types of self-tolerance loss in patients with myasthenia gravis // International conference on Disease biomarkers and precision medicine, October 22 - 24, 2018, Houston, TX, USA. – P. 27.
9. Дедаев С.И. Антигены к аутоантигенным мишениям при миастении и их значение в клинической практике // Нервно-мышечные болезни. – 2014. - №2. – С. 6 -15.
10. Williams, C.L. Thymic B lymphocyte clones from patients with myasthenia gravis secrete monoclonal striational autoantibodies reacting with myosin, α actinin, or actin / C.L. Williams, V.A. Lennon // Journal of Experimental Medicine. – 1986. – №4 (164). – P. 1043–1059.
11. Evoli, A. Juvenile myasthenia gravis with prepubertal onset / A. Evoli [et al.] // Neuromuscul Disord. – 1998. – № 8 (8). – P. 561 – 567.
12. Бардаков С.Н., Живолупов С.А., Рашидов Н.А. Иммунологическая и клиническая гетерогенность миастении // Вестник Российской военно - медицинской академии. – 2016. - №1 (53). – С.154 – 164.
13. Scarpino, S. Expression of autoimmune regulator gene (AIRE) and T regulatory cells in human thymomas / S. Scarpino [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2007. – № 149. – P. 504–512.

MODERN TREATMENT METHODS OF COMPRESSION - ISCHEMIC NEUROPATHY OF THE FACIAL NERVE

Murzaikina E.

*VI th yeare student national state research University of Mordovia named after I. P. Ogarev
Usanova T.*

Candidate of medical sciences professor (faculty of nervous diseases and psychiatry)

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ КОМПРЕССИОНО – ИШЕМИЧЕСКОЙ НЕВРОПАТИИ ЛИЦЕВОГО НЕРВА

Мурзайкина Е.М.

*Студентка VI курса «Национального Исследовательского
Мордовского государственного университета имени И.П. Огарёва»*

Усанова Т.А.

к.м.н. доцент Кафедры нервных болезней и психиатрии

Abstract

This article highlights the issues of facial neuropathy, modern approaches to treatment and rehabilitation.

Аннотация

В данной статье освещены вопросы невропатии лицевого нерва, современные подходы к лечению и реабилитации.

Keywords: facial nerve, facial nerve neuropathy, neuromedin, prevention

Ключевые слова: лицевой нерв, невропатия лицевого нерва, нейромедин, профилактика.

Введение.

Компрессионно-ишемическая невропатия (туннельный синдром, туннельная невропатия, ловушечная невропатия) Невропатия лицевого нерва – это заболевание, при котором воспаляется одна из ветвей лицевого нерва. При этом возникает парез и даже паралич лицевых мышц. [Е.И. Гусев., А.Н. Коновалов, В.И. Скворцова , 2015 с. 508].

Актуальность.

Невропатия лицевого нерва встречается наиболее часто среди заболеваний периферической нервной системы. Она занимает второе место по частоте среди всех заболеваний периферической нервной системы [Жулев Н. М. и соавт., 2005]. Заболеваемость составляет в среднем 20–30 случаев на 100 000 населения в год. Неврит лицевого нерва возможен в любых возрастных группах, средний возраст заболевших — 40 лет. Мужчины и женщины в целом болеют одинаково часто. При невропатии лицевого нерва отмечается циклический и сезонный рост числа заболеваний с промежутком в 4 года, 40% приходится на март-апрель, 27% - на декабрь [Козорез В.Н., Козорез Л.В., 2013]. Вследствие этого изучение данной темы является в настоящее время актуальным.

Цель: исследование современных методов лечения больных с невритом лицевого нерва.

Задачи:

1. Раскрыть основное понятие невропатии лицевого нерва.
2. Рассмотреть основные способы лечения и реабилитации больных.
3. Изучить профилактику больных с невритом лицевого нерва.
4. Рассмотреть осложнения при невропатии лицевого нерва.

Основное понятие невропатии лицевого нерва.

Невропатия лицевого нерва — это воспалительные изменения одного или нескольких нервов лица. При этом возникает парез и даже паралич лицевых мышц. В основе поражения отдельных нервов чаще лежит внешняя травма либо компрессия нервного ствола, реже бывает инфекционная природа заболевания.

Предрасполагающими факторами служат поверхностное расположение нерва или его прохождение в узких костных, мышечно-связочных каналах. При атеросклерозе, сахарном диабете, узелковом периартиrite и других коллагенозах мононевропатии обусловлены поражением сосудов. Заболевание по происхождению может быть воспалительное, компрессионное, ишемическое. Отрезок нерва который расположен в узком извитом канале длиной 30-33 мм, является наиболее

уязвимым, где вследствие отека, вызванного воспалением, может наступить его сдавление. Заболевание провоцируют переохлаждение, травма и инфекция. Так же невропатия лицевого нерва может являться осложнением отита, мезотимпанита, паротита, воспалительных процессов в мозге, но может быть и результатом нейротропной вирусной инфекции (опоясывающего герпеса).

Невропатия лицевого нерва имеет затяжное течение. В среднем придется провести в стационаре 20-30 дней. На полное восстановление потребуется от 3 до 6 месяцев. Но, к сожалению работа лицевых мышц у 5% людей не восстанавливаются, вследствие опухоли мозга или черепно-мозговой травмы. В 10% случаев регистрируется рецидив. В зависимости от того какой отдел нерва поврежден, на какую глубину и как быстро начато лечение, проявляется тяжесть болезни и сроки выздоровления.

Клинические проявления.

Поражения лицевого нерва сопровождается остро развивающимся параличом или парезом мимической мускулатуры. За 1—2 дня до развития двигательных расстройств могут быть боли в области уха и сосцевидного отростка, если поражен лицевой нерв до отхождения барабанной струны. Особено сильные боли отмечаются при поражении лицевого нерва на уровне узла коленца. Клиническая картина будет зависеть от уровня поражения лицевого нерва. При поражении корешка лицевого нерва в области выхода его из мозгового ствола клиническая картина невропатии VII нерва сочетается с симптомами поражения тройничного и вестибулокохлеарного нервов.

Поражение лицевого нерва в костном канале до отхождения большого каменистого нерва, кроме паралича мимической мускулатуры, приводит к уменьшению слюно- и слезоотделения, вплоть до сухости глаза (ксерофталмия) снижением надбровного и корнеального рефлексов, расстройством вкуса, гиперакузией.

Поражение до отхождения стременного нерва дает ту же симптоматику, но вместо сухости глаза повышается слезоотделение, если лицевой нерв поражается дистальнее отхождения стременного нерва, то гиперакузия отсутствует.

Поражение барабанной струны приводит к нарушению вкусовой чувствительности на одноклассовых передних 2/3 языка. В случаях, когда лицевой нерв поражается в месте выхода из шилососцевидного отверстия, преобладают двигательные расстройства.

Медикаментозное лечение неврита лицевого нерва.

При острых поражениях лицевого нерва в первую очередь назначают

▪ Гормональные препараты (преднизолон в суточной дозе 30-60 мг на протяжении 7 дней с последующей постепенной отменой в течении 3-5 дней) Применяются при выраженных симптомах неврита. Механизма действия – активация нейромедиаторов, улучшающих проведение нервного импульса.

▪ Ингибитор холинэстеразы (Нейромедин в/м 5-15 мг 1-2 раза/сут в течение 10-15 дней., затем по 1 таблетке 2-3 раза в сутки. Курс лечения — от 10-15 дней при остром неврите, до 20-30 дней — при хроническом. При необходимости курс лечения повторяют 2-3 раза с интервалом 2-4 нед до достижения терапевтического эффекта) - непосредственно стимулирует проведение импульса в нервно-мышечном синапсе и в центральной нервной системе (ЦНС) вследствие блокады калиевых каналов мембраны.

▪ Нестероидные противовоспалительные средства (Индометацин начальная доза - по 25 мг 2-3 раза/сут. При недостаточной выраженности клинического эффекта дозу увеличивают до 50 мг 3 раза/сут При достижении эффекта лечение продолжают в течение 4 недель в той же или уменьшенной дозе.) - необходимы для уменьшения воспалительного процесса, снятия боли и уменьшения отёка.

▪ Для защиты желудочно-кишечного-тракта (ингибиторы протонной помпы: ранитидин 150 мг 2 раза в день или омепразол 20 мг в сутки)

▪ Противоотечная терапия (Лазикс 0,4 мг по 1 таблетке 1 раз в день утром). Способствуют выведению лишней жидкости из организма. В первую очередь выводится содержимое отёчных тканей. Спазмолитические средства (Спазмалгон 20-80 мг/сут). Назначаются для устранения чрезмерного мышечного сокращения при симптомах неврита и для расслабления стенок кровеносных сосудов, что улучшает кровоснабжение тканей

▪ Антиоксиданты (альфа-липоевая кислота разовая доза составляет 600 мг за полчаса до употребления пищи. Курс лечения 1 месяц, затем по 300 мг в день, как поддерживающее средство. Следует проводить повторные курсы лечения данным средством с промежутком в 1 месяц.) улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови.

▪ Противовирусные лекарства (Ацикловир 400-800мг 5 раз/сут каждые 4 ч, за исключением периода ночного сна, курс лечения составляет 5 дней). Тормозят процесс размножения вируса герпеса – одной из причин неврита.

▪ Витамины группы В (Тиамина бромид, Цианокобаламин, Пиридоксина гидрохлорид принимать по 1-2 таблетки после еды 1 раз в день. Курс лечения 1-2 месяца) – нейротропные витамины, принимают участие в метаболизме нервной ткани.

Реабилитация при неврите лицевого нерва

В раннем периоде назначают лечение положением, которое включает следующие рекомендации:

▪ спать на боку (на стороне поражения), в течение 10–15 минут 3–4 раза в день сидеть, склонив голову в сторону поражения, поддерживая ее тыль-

ной стороной кисти (с опорой на локоть), подвязывать платок, подтягивая мышцы со здоровой стороны в сторону поражения (снизу вверх), стремясь при этом восстановить симметрию лица.

▪ Для устранения асимметрии лица проводится лейкопластырное натяжение со здоровой стороны на больную. Лейкопластырное натяжение в первые сутки проводят по 30–60 минут 2–3 раза в день, преимущественно во время активных мимических действий (например, при разговоре и т. п.). Затем время лечения увеличивается до 2–3 часов.

▪ Специальные упражнения для мимических мышц:

- 1) поднять брови вверх;
- 2) наморщить брови ("хмуриться");
- 3) закрыть глаза (последовательность выполнения этого упражнения: посмотреть вниз; закрыть глаза, придерживая веко пальцами на стороне поражения, и держать глаза закрытыми в течение минуты; открыть и закрыть глаза 3 раза подряд);
- 4) улыбаться с закрытым ртом;
- 5) щуриться;
- 6) опустить голову вниз; сделать вдох и в момент выдоха "фыркать" ("вибрировать губами");
- 7) свистеть;
- 8) расширять ноздри

▪ Массаж начинают через неделю, сначала здоровой стороны и воротниковой зоны. Приемы массажа (поглаживание, растирание, легкое разминание, вибрация) проводят по очень щадящей методике

- Так же рекомендуется:
Электрическое поле УВЧ
Переменное поле
Иглорефлексотерапия

Если полного восстановления лицевого нерва в течение первых 2-3-х месяцев не произошло, назначают лидазу и биостимуляторы (алоэ, ФИБС). При появлении контрактур производят отмену антихолинэстеразных препаратов, назначают медокалм, тегретол.

Хирургическое лечение показано в случае врожденного неврита лицевого нерва или полного разрыва лицевого нерва в результате травмы. При отсутствии эффекта от консервативной терапии через 8-10 месяцев и выявлении электрофизиологических данных о перерождении нерва также необходимо решать вопрос о проведении операции. Хирургическое лечение неврита лицевого нерва имеет смысл только в течение первого года, так как в дальнейшем наступает необратимая атрофия мимических мышц, оставшихся без иннервации, и их уже невозможно будет восстановить.

Профилактика больных с невритом лицевого нерва.

Предупреждение травм и переохлаждений, адекватное лечение воспалительных и инфекционных заболеваний уха и носоглотки, **своевременное лечение вирусных заболеваний, правильное питание и прием витаминов** позволяют избежать развитие неврита лицевого нерва.

Осложнения

При лёгких формах неврита лицевого нерва его симптомы бесследно исчезают в течение месяца.

Тяжёлые формы могут вызывать следующие осложнения:

- необратимые повреждения лицевого нерва;
- неправильное отрастание нервных волокон, что приводит к непроизвольному движению одних мышц, когда человек пытается использовать другие
- синкинезия. Например, когда человек улыбается, у него могут непроизвольно закрываться глаза.
- частичная или полная потеря зрения, вызванная невозможностью опускать веки и, как следствие, избыточной сухостью глаз.

Заключение

1. Невриты лицевого нерва встречаются с различной частотой в регионах страны, в любом возрасте, одинаково часто у лиц обоего пола.
2. Заболеваемость развивается одинаково у лиц молодого, и пожилого возраста.
3. Наиболее частым фактором, ведущим к заболеванию лицевого нерва, ведет переохлаждение.

4. Если своевременно обратиться за помощью к врачу и вовремя начать лечение, а также соблюдать профилактику, то можно избежать осложнений нейропатии лицевого нерва.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Е.И. Гусев., А.Н. Коновалов, В.И. Скворцова , 2015 с. 508
2. Жулев Н. М. и соавт., 2005
3. Козорез В.Н., Козорез Л.В., 2013
4. Комплексное лечение больных с невропатией лицевого и невролгией тройничного нервов. Методические рекомендации.- М.,2005.-32 с.
5. Лейдерман Н.Е., Щекина Р.В., Зайончиковская И.М., Кочетков А.В. Невропатия лицевого нерва: оптимизация диагностики и лечения //Медицинский весник МВД.- 2013.- №1 (62).-С.62-67.
6. Черепные нервы.Функция и дисфункция/ Л. Уилсон-Паувелс и др. Пер. С англ. Под ред. А.А. Скоромца – М. 3013 – 272 с.

CELL LINE OF POORLY DIFFERENTIATED ADENOCARCINOMA FROM METASTASES OF HUMAN BREAST CANCER FOR THE DEVELOPMENT OF PERSONALIZED TUMOR THERAPY

Sichkar D.

Junior Researcher of the Institute of medical Cell Technologies, Assistant of the Department of Biology USMU, Ministry of Health of the Russian Federation

Melekhin V.

Junior Researcher of the Institute of medical Cell Technologies, Assistant of the Department of Biology USMU, Ministry of Health of the Russian Federation

Korotkov A.

Candidate of medical Sciences, associate Professor of biology, Ministry of health of the Russian Federation, leading researcher of the Institute of medical cell technologies

Kostyukova S.

Candidate of biological Sciences, associate Professor, Department of biology, MINISTRY of Health of the Russian Federation, senior researcher, Institute of medical cell technologies

Makeev O.

MD, prof., head of Department of Biology USMU, Ministry of Health of the Russian Federation, head of laboratory Institute of medical Cell Technologies.

Abstract

The article deals a process of preparing a primary culture of cells from the human metastatic breast cancer isolating line clones to investigate a clonogenic and proliferative activity.

Keywords: cancer cell, cell lines, human breast cancer.

Within the framework of the modern paradigm of development of medicine, the emphasis in the study on the development and selection of effective means of cancer therapy is shifting towards the selection of personalized treatment methods. The creation of the latter is implemented in several directions. Thus, the development of anticancer vaccines provides for the introduction of genetic structures into cells that ensure recognition of these cells by the patient's own immune system. At the same time, the great attention of researchers is attracted by the use of local chemotherapy, which requires testing of therapies on cell lines from

the tumor tissue of patients when cultivated in vitro. Meanwhile, the development of these areas is hampered by the difficulty of obtaining a stable line of human tumor cells. Therefore, the development of the algorithm for obtaining a culture of transformed cells is the main task of the initial stage of creating personalized anticancer drugs.

The purpose of the study was to develop a method for obtaining a culture of human breast cancer metastasis cells.

Materials and methods

Explant

The material for the study was obtained from the tissue of a remote metastasis of patient H., born in 1952, observed with the diagnosis: "Metastasis of breast cancer in the body of the L3 vertebra with an epidural component, spinal cord compression of 2–3 degrees". Comprehensive treatment of breast cancer was performed in 2013 (mastectomy, course of PCT). At hospitalization: left radicular pain syndrome L3; peripheral moderate paresis L3 root on the left; lumbodynbia; condition after laminectomy, TPF L2-L4. In the conditions of the in-patient unit of the hospital, the Sverdlovsk Regional Oncologic Dispensary was administered a planned surgical treatment: total corpectomy L3, spinal fusion MESH implant. The histological conclusion of the surgical material: metastasis of glandular-skirroznogo breast cancer. In addition, several tumor fragments were intraoperatively placed in sterile saline and delivered to the laboratory within 4 hours from the time the tissue was taken at + 4 ° C for research.

Primary culture

Under laminar flow conditions, the fabric was treated with 70% ethanol for 30 seconds, washed with phosphate buffer. After mechanical grinding, fragments up to 4 mm³ in size were distributed into culture flasks containing DMEM culture medium (Sigma Aldrich), fetal bovine serum (9: 1, Sigma Aldrich) and antibiotics in a standard concentration (penicillin 100U / ml, streptomycin 100 µg / ml).

Cultivation was carried out at 5% CO₂ in a Sanyo incubator. Disaggregation of the fragments was performed on day 3 using a solution of crude collagenase at a concentration of 200 units / ml. Cells were washed from the enzyme three times by reprecipitation in phosphate buffer (150g, 5 minutes). Cell suspension was transferred to new culture flasks, which were placed in an incubator for cultivation at 37 ° C, 5% CO₂, 95% humidity with daily macro- and microscopic control using an inverted Olympus CX41 microscope at x40, x200. The medium was changed every 3 days at 60% of the total volume [1]. Solitary cells adhered on the surface of the culture flask were noted already 24 hours after washing from the enzyme.

The first subculturing was carried out when the culture reached 80% confluence on day 6 after enzymatic disaggregation by the standard method [3]. 2/3 of the total number of cells in the form of a suspension was transferred to a new culture surface.

Isolation of clones

Comparison of the viability of transformed cell lines obtained from different clones of the same culture in terms of the efficiency of cultivation and seeding

Clone	The number of Petri dishes	Seeding concentration (cells / cm ²)	The average number of colonies in a Petri dish	The cultivation efficiency, %	Sowing efficiency, %
1	10	20	1,0	0,52	85
2	10	20	1,1	0,57	88
3	10	20	1,4	0,73	93

As follows from the table, the obtained cell lines showed moderate clonogenic activity: when the seed

To isolate clones, a cell culture was used at the third passage. Cells were sown at a seeding concentration of 20 cells per 1 cm² of area and cultured under standard conditions for 2 weeks - until visualization of the colonies visible to the naked eye. Each colony was isolated with a metal ring inside which cells were removed and subcultured using a standard trypsinization technique. The manipulations were repeated until three proliferatively active clones were obtained.

Clones, after increasing the required cell volume, were characterized by the efficiency of seeding and cloning. For this, cells of each cell clone were planted at a low seed concentration (20 cells per 1 cm²). The control of adherent cells was made 6 hours after the passage, the control of clonogenic activity — in two weeks, the intermediate microscopic control — every three days. The calculation was made according to the formulas:

$$N_2 / N_1 \times 100 = PE \quad \text{and} \quad N_3 / N_1 \times 100 = SE,$$

where: N1 is the number of seeded cells, N2 is the number of formed colonies, N3 is the number of adherent cells, PE is the efficiency of cultivation, SE is the efficiency of seeding.

Morphological assessment

For the morphological study of clones, cells were sown on Petri dishes (Sarstedt), in 4 replications for each clone. After the culture reached the log phase and 70% confluence, the cells were fixed with 80% ethanol and stained according to the Romanovsky method.

Growth curve

To construct a growth curve [2], cells of the isolated clone were planted on 10 culture flasks (Orange), with a seed concentration of 5 × 10³ cells per cm². To carry out cell counting, one culture flask was removed from the experiment every day, from which cells were removed using a 0.25% trypsin solution. Cell counting was performed on a Fuchs-Rosenthal camera in 10-fold repetition. Based on the data obtained, a growth curve was constructed and analyzed.

Statistical processing of the data was carried out using Excel. In constructing the growth curve, the Mann-Whitney test was used.

Results and discussion

Clonogenic activity

Upon receipt of cell culture from the tissue of metastasis of the breast, three cell clones were isolated. To obtain the characteristics of viability and proliferative activity of the obtained lines, the efficiency of cultivation and seeding was evaluated (Table 1).

Table 1

concentration was 20 cells per 1 cm², the average number of colonies in different clones ranged from 1 to 1.4

per dish. At the same time, the obtained cell culture demonstrated high seeding efficiency: from 85 to 93%.

Morphological analysis

The analysis of the primary culture revealed a weak morphological heterogeneity of the cells. The culture is represented by monomorphic large cells of a spindle-shaped, process and triangular shape with a large nucleus and several nucleoli. Cell contacts are mild.

The study of the morphology of the obtained clones revealed the morphological differences of cell lines. Clones 1 and 2 are characterized by the predominance of functionally active cells with an oval, well-contoured nucleus, pronounced cellular contacts and the presence of no more than 3 nucleoli. The cells had a predominantly fusiform and process shape. In the cytogram of clone 3 culture, an increase in cell polymorphism was observed with an increase in confluence,

which is typical of cultures obtained from tumor tissues. Culture is represented by cells with one or two nuclei and the presence of at least two nucleoli. Cell contours and cell contacts are distinctly expressed. After the culture reached more than 70% of confluence, numerous clusters of small rounded cells with a lower optical density of the cytoplasm appeared. These colonies were surrounded by larger cells with one or two large processes. Between such colonies were located large and small cells of the spindle-shaped, triangular and growth forms with one or two nuclei containing at least three nucleoli.

Growth curve

In the course of the research, data were obtained on the basis of which the growth curves for cultures obtained from various clones were plotted (Fig. 2).

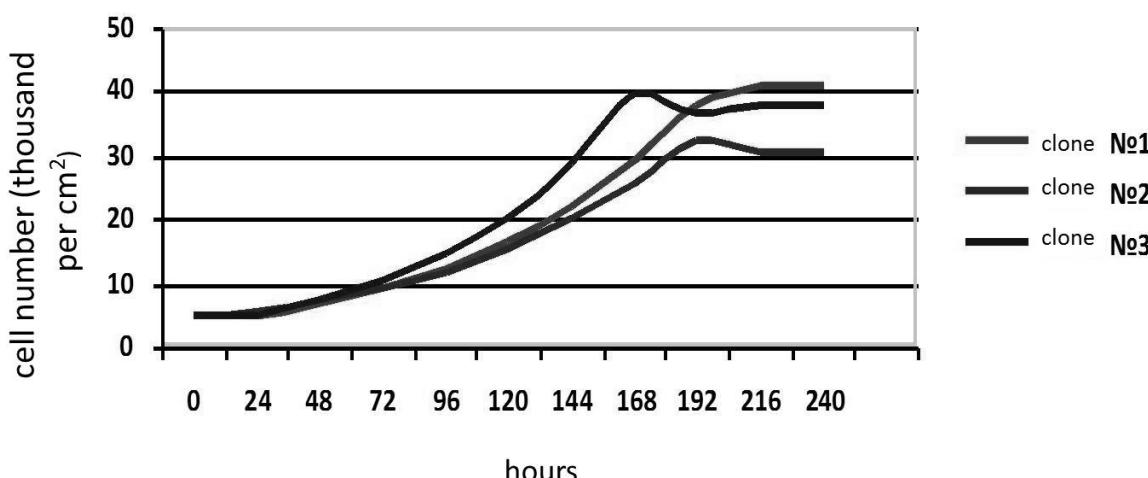


Figure 2. Growth curve of cell cultures derived from breast cancer metastasis tissue.

An analysis of the growth curve made it possible to determine the duration of the cell growth phases and compare these indicators with the obtained lines. As follows from the graph, the output to the lag phase for all lines was observed by 24 hours. In this case, already by the example of the log phase, noticeable differences can be traced: for lines 1 and 2 of the clones, it was 168 hours, and in line 3 of the clone, the log phase lasted less than 144 hours. The Plateau phase, in which the number of cells stabilized, was achieved by 8 and 7 days, respectively. The minimum average doubling period was demonstrated by 3 clone culture and was 33.8 hours. For cultures 1 and 2 clones, the doubling period is from 35.9 to 37 hours. The maximum number of cells also differed. Thus, registered in culture from 1 clone to 9 days, it amounted to 40.72 thousand cells per cm^2 . A comparable result for this indicator was obtained for cells of the 3 clones: 39.64 thousand cl / cm^2 on the 7th day of the experiment. However, the maximum number of cells in culture 2 clones was significantly lower: 32.54 thousand $\text{cells} / \text{cm}^2$ for 8 days.

The presented differences indicate the heterogeneity of the cellular composition of the tumor, which con-

firms the well-known ideas about the different clonogenic and proliferative activity of clones isolated from a single tumor sample. It is important that different cell lines of one tumor may differ in immunogenicity generated in the process of creating an antitumor vaccine. Accounting for these data will also help to more effectively determine the individual sensitivity of the patient to the planned antitumor therapy.

Accounting for these data will also help to more effectively determine the individual sensitivity of the patient to the planned antitumor therapy.

Conclusion

1. Clonogenic and proliferative activity, as well as the morphology of cell lines isolated from different clones of one tumor differ, which suggests a different inducible immunogenicity.

2. The developed algorithm can be used to obtain cell cultures from tumor tissues to create an antitumor vaccine, to study the additional expression of genes on transformed cells, to increase the effectiveness of personalized therapy for cancer patients.

REFERENCES:

1. Миронова Л.Л., Попова В.Д., Конюшко О.И., Хапчак Ю.Х., Зыбин Д.В., Акопян А.С. Опыт создания банка авторских линий перевиваемых клеток и их применение в вирусологической практике// Биотехнология, 2000. №6, С.41-47./ Mironova L.L., Popova V.D., Konyushko O.I., Khapchak Yu.K., Zybin D.V., Akopyan A.S. The experience of creating a bank of author's cell lines and their use in virological practice // Biotechnology, 2000. №6, p.41-47.
2. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство // пер. с 5-гоengl. Изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 691с./ Freshny R.Ya. Culture of animal cells: a practical guide The 5th eng. Ed. - M : BINOM. Laboratory of knowledge, 2011. - 691s.
3. Langdon S.P. Cancer cell culture. Method and protocols / Methods in Molecular Medicine, vol. 88: Humana Press Inc., Totowa, NJ

POSTOPERATIVE EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF BARIATRIC SURGICAL TREATMENT AND DETECTION OF EARLY COMPLICATIONS USING MULTISLICE COMPUTED TOMOGRAPHY

Kruchenok I.

State Institution "Belarusian State Medical University"

State Institution "Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology", Minsk, Belarus

Aleshkevich A.

State Institution "Belarusian State Medical University"

State Institution "Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology", Minsk, Belarus

Stebunov S.

State Institution "Belarusian State Medical University"

State Institution "Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology", Minsk, Belarus

Glinnik A.

State Institution "Belarusian State Medical University"

State Institution "Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology", Minsk, Belarus

Shilo R.

State Institution "Belarusian State Medical University"

State Institution "Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology", Minsk, Belarus

Abstract

The problem of obesity is one of the most pressing in modern medicine. Nowadays the method of choice for treatment of morbid obesity is surgical. There is currently no single ideal bariatric surgery, which would be effective and safe for all obese patients. The early postoperative period is dangerous by the development of life-threatening complications, which must be diagnosed in time. Multislice computed tomography nowadays is a reference method of imaging that allows you to comprehensively assess the anatomical features of each person, to identify associated diseases and to diagnose early postoperative complications in time.

Keywords: obesity, bariatric surgery, multislice computed tomography, postoperative complications.

Introduction

The problem of obesity is one of the most pressing in modern medicine. Obesity is a chronic disease manifested in excessive fatty tissues in the body which is prone to progression leading to complications and high risk relapse after a course of treatment.

Currently prevalence world obesity has gained scale pandemics [4], [5], [6], [8], [9]. Every year, the number of people with both overweight and obesity increases. According to WHO data for 2017 the world's official obesity statistics totals about 1.9 billion overweight people. More than 640 million people are excessively full.

In Belarus according to WHO data for 2017 60.6% of the population are overweight, including 25.4% of people who are obese. Visceral obesity was diagnosed in 42% of men and 63.5% of women.

Obesity is the root cause of such serious diseases as hypertension, ischemic heart disease, early vascular atherosclerosis, diabetes mellitus 2 types, hormonal disorders, significantly increasing the risk of disability, disability, premature death, often in a young age.

For an objective assessment of the trophological status, the BMI is used, developed by the Belgian sociologist and statistician A. Ketelle in 1869. According to the WHO recommendations, in the normal state BMI is from 18.5 to 24.99 kg / m²; overweight, or pre-obesity, is considered for a BMI of 25 kg / m² to 29.99 kg / m²; with BMI from 30 kg / m² to 34.99 kg / m² - I degree of obesity; BMI from 35 kg / m² to 39.99 kg / m² - II degree of obesity; BMI > 40 kg / m² - III degree of obesity [6], [7], [8].

Using non-invasive methods of treating this pathology, unfortunately, are ineffective, since more than

95% of patients cannot achieve results, let alone keep a clinically significant weight loss, and in severe obesity, the effectiveness of conservative therapy does not exceed 5-10%, and therefore the method of choice in morbid obesity treatment is a surgical [1], [2], [3], [4], [11].

Bariatric surgery is the most effective method of achieving significant and long-term weight loss in patients with morbid obesity. In morbid obesity, the following main methods of bariatric surgery are performed:

- intragastric balloon;
- adjustable gastric banding (AGB);
- sleeve gastrectomy (LSG);
- Roux-en-Y gastric bypass (RYGB);
- mini gastric bypass (MGB)
- biliopancreatic division (BPD).

Indications for the surgical treatment of obesity are [3], [4], [7]:

-IMT more than 40 kg/m², so called morbid obesity;

- with a lower BMI - from 35 to 40 kg / m², but in the presence of concomitant diseases or complications that dramatically worsen the prognosis and are associated with obesity: diabetes, uncontrolled arterial hypertension, heart failure, etc.;

-effectiveness of previous conservative treatment.

Contraindications for surgical treatment of obesity are: decompensated comorbidity (cardiac, hepatic, renal, pulmonary insufficiency); exacerbation of gastric ulcer and duodenal ulcer; pregnancy; drug addiction, alcoholism, mental illness; oncological diseases; patients younger than 18 years old (in the absence of parental consent) [3], [4], [7].

MSCT is one of the leading modern imaging methods, which has several advantages that make it possible to identify the complications, both early and remote, and evaluate the results of surgical treatment.

MSCT is the most informative method for examining patient data, since the large body mass and the amount of subcutaneous adipose tissue reduces the accuracy and makes it difficult to carry out other methods of medical imaging, such as X-ray examination (fluoroscopy with oral contrast) and ultrasound of the abdominal organs.

Early postoperative complications are complications identified in the first 30 days after surgery [10], [12].

In the early postoperative period, computed tomography makes it possible to identify various complications such as anastomotic failure, intestinal obstruction, abscesses and fluid flow into the abdominal cavity, deep vein thrombosis, hiatal hernia, esophagus dilatation, infection of wound, etc.

Materials and methods

In the period from June 2014 to August 2018, 170 different types of bariatric surgeries were performed at the Minsk Scientific Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology in Minsk with the aim of reducing body weight in patients suffering from obesity 1–3 degree.

The study included 37 patients- 11 men (30%) and 26 women (70%), aged from 18 to 64 years, median age of 42 years (36-52), who underwent various types of bariatric surgical procedures, 19 patients (51.4%) have undergone sleeve gastrectomy, 13 (35.1%) – mini gastric bypass, one (2.7%) – gastric plication, one (2.7%) – Roux-en-Y gastric bypass, in three patients (8.1%), combined surgical treatment was performed. During bariatric surgery, two patients also underwent cholecystectomy, one patient had fundoplication, and one patient had a hernia repair of the umbilical hernia. For the diagnosis of postoperative complications, patients underwent MSCT of the abdominal cavity with oral contrast according to standard protocols (Toshiba Aquilion One 640). Scanning parameters: slice thickness - 1mm image matrix - 512x512, tube voltage - 120 kV, current strength - 100 wt.

Using post-processing of CT data , the stomach pouch volumetry , assessment of the state of anastomoses and internal organs, assessment of the amount of subcutaneous fat were also conducted for further comparison in the late postoperative period and evaluation of treatment results in the future.

Results and discussion

Of the 37 patients enrolled in the study, 31 patients underwent one CT scan in the early postoperative period, three patients underwent two CT examinations, two - four CT studies, one - five CT studies.

Seven patients were diagnosed with early postoperative complications: (Figure 1 - 9) in three patients after SG and after gastric plication failure of the suture line was detected, of which one patient - with the incomplete gastric fistula, intestinal fistula, peritonitis and wound infection. In the second patient - undergone gastric pouch and peritonitis were recognized; the third patient had undergone gastric pouch, peritonitis and pleural effusion on the left. In one patient after MGB afferent loop syndrome and wound infection were identified. In three patients, after a SG and after combined surgical treatment, a hematoma near the stomach pouch was identified with no signs of failure of the suture line.

Two patients in the postoperative period were identified to have developed hiatal hernia, which were not diagnosed before surgery and intraoperative

Four of the seven patients with complications received re-operations.

The number of complications for the study period

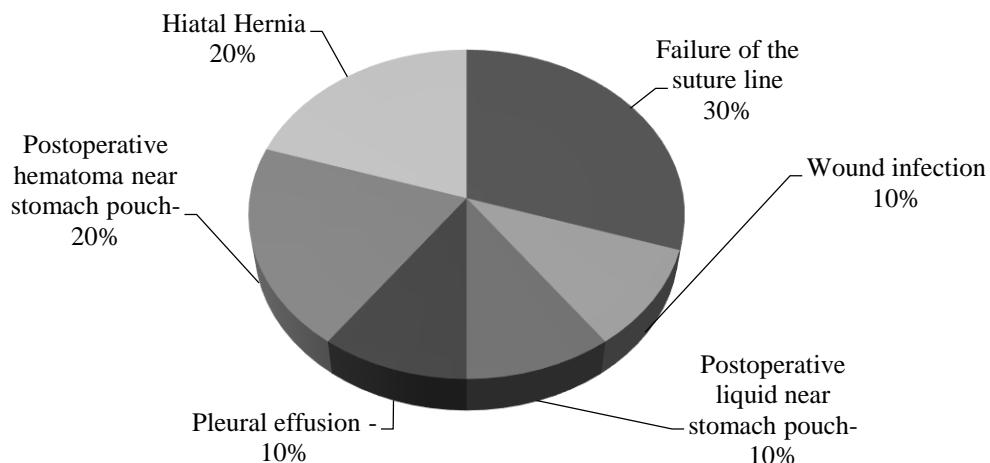


Figure 1 - The percentage of identified complications over the study period

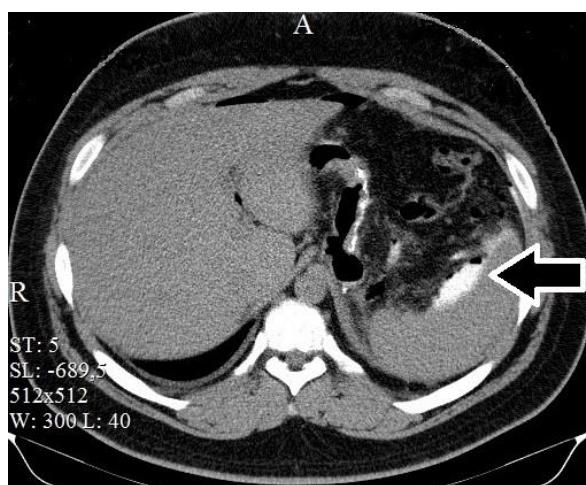


Figure 2 - Patient D., 18 years old, after sleeve gastrectomy

When MSCT with contrast is determined leakage of contrast into the abdominal cavity due to the insolubility of the area of the suturing of the stomach (arrow)



Figure 3 - Patient D., 47 years old, after gastric plication

An intestinal fistula with an infected leakage into the anterolateral abdominal wall on the left and into the abdominal cavity (arrow) has formed

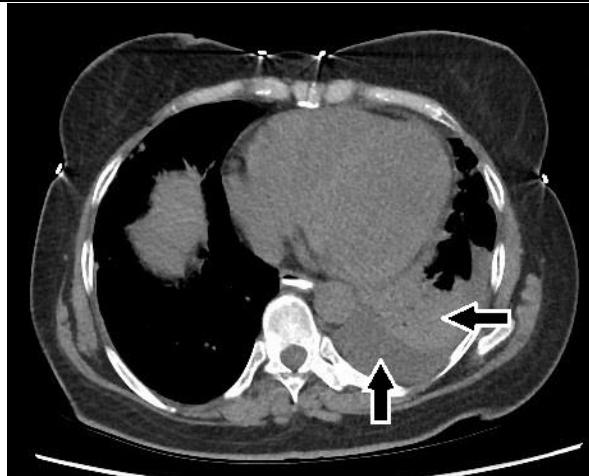


Figure 4 - Patient K., 55 years old, after sleeve gastrectomy

One of the complications was pleural effusion and left-sided lower lobe pneumonia (arrows)

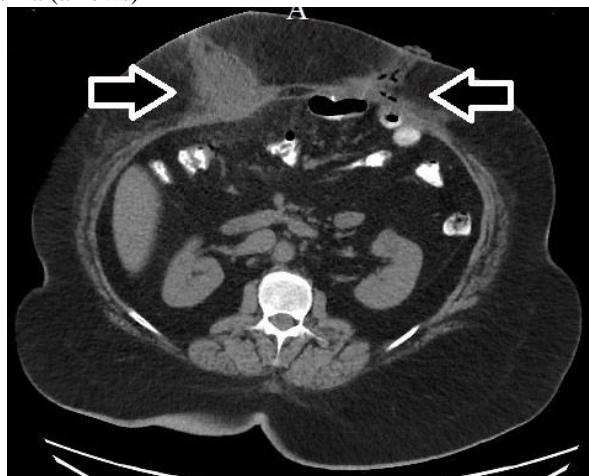


Figure 5 - Patient M., 53 years old, after mini gastric bypass

A wound infection has been identified in this areas (arrows)

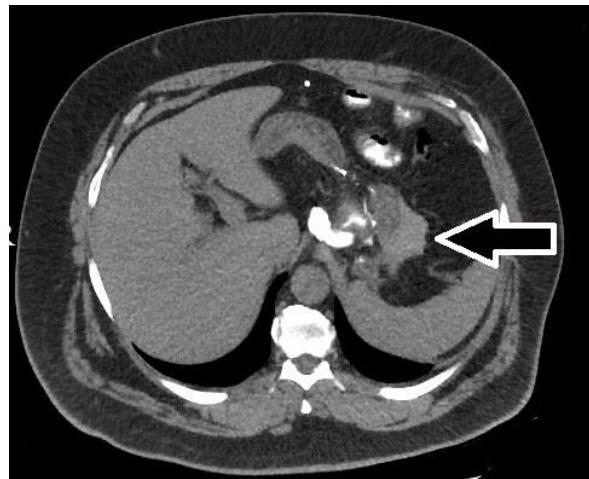


Figure 6 - Patient B., 52 years old, after combined surgical treatment (adjustable gastric band removing+ mini gastric bypass)

The limited accumulation of the contents of the hemorrhagic density paragastrally was found without signs of failure of the suture line (arrow)

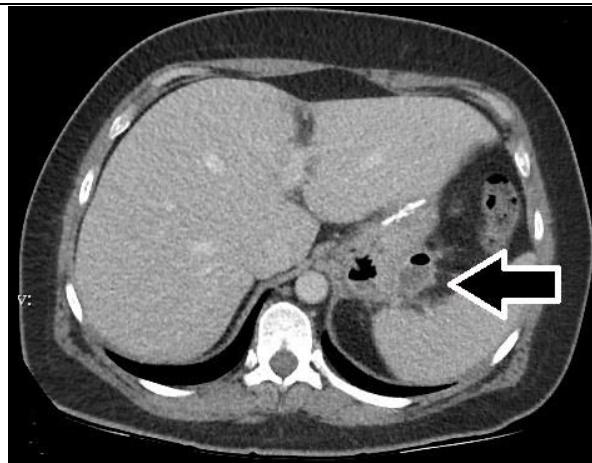


Figure 7 - Patient P., 30 years old, after sleeve gastrectomy

The limited accumulation of liquid density with a bubble of air is paragastrally determined without signs

of insolvency in the area of the suturing of the stomach (arrow)

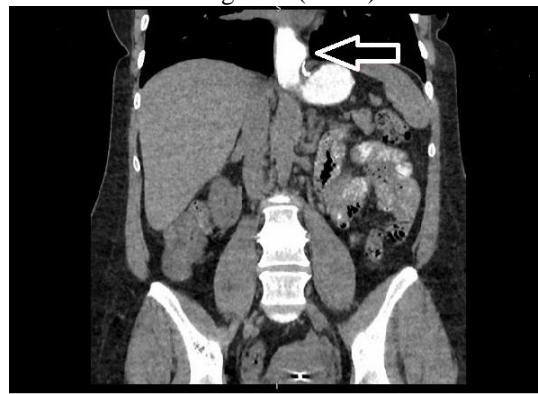


Figure 9 (a, b) - Patient A., 44 years old, after sleeve gastrectomy

A hiatal hernia was detected, which was not diagnosed before surgery and intraoperative (arrows)

Conclusion

The problem of being overweight and obesity is extremely common in the modern world.

The applied non-invasive methods for the treatment of morbid obesity are practically ineffective, and therefore the method of choice for the treatment of this pathology is surgical.

There is currently no single ideal bariatric surgery that would be effective and safe for all obese patients, so a differential approach should be taken to selecting the type of surgery based on age, BMI, presence of concomitant diseases, food preferences, treatment motivation and financial possibilities of patients.

The early postoperative period after bariatric surgical treatment is dangerous by the development of life-threatening complications, which should be diagnosed in time.

Of the 37 patients included in our study, complications were identified in seven patients, including failure of the suture line, complicated by peritonitis, wound infection, pleurisy with effusion, and pneumonia. Two patients had hiatal hernia, which were not diagnosed before surgery and intraoperative. The most frequent and most severe complication is the failure of the suture line, which requires re-operation.

MSCT today is a reference method of research that allows us to comprehensively assess the anatomical features of each person, identify associated diseases and diagnose early postoperative complications in time.

REFERENCES:

1. Дорох Н. Н. Бariatрические операции в лечении морбидного ожирения / Н.Н. Дорох, В. Г. Богдан // Хирургия. Восточная Европа. - 2012 - № 3. - С. 335-336.
2. Результаты хирургического лечения морбидного ожирения / А.А. Литвин [и др.] // Актуальные вопросы хирургии: материалы XV съезда хирургов Республики Беларусь, Брест, 16-17 окт. 2014 г. / Белорусская ассоциация хирургов; редкол.: А.С. Карпицкий [и др.]. - Брест, 2014. - С. 175-176.
3. Седлецкий, Ю.И. Современные методы лечения ожирения. Руководство для врачей / Ю.И. Седлецкий – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2007 – 416 с.
4. Яшков, Ю.И. О хирургических методах лечения ожирения / Ю.И. Яшков. – Изд. 4-е, перераб. и доп. – М.: АирАпт, 2013 – 48 с.
5. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis / H. Buchwald [et al.] // JAMA. – 2004. - Vol. 292, №14. – P. 1724–1737.
6. Li, Z. Health ramifications of the obesity epidemic / Z. Li, S. Bowerman, D. Heber // Surg. Clin. North. Am. – 2005. – Vol. 85, №4. - P. 681–701.
7. Obesity: identification, assessment and management switch procedure / R.M. Fazylov [et al.] // Obes. Surg. – 2005. - Vol. 15, №5. – P. 618-623.
8. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. (WHO Technical Report Series 894). [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: <http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO TRS 894/en/>. - Date of access: 18.01.2016
9. Randomized clinical trial of laparoscopic gastric bypass versus laparoscopic duodenal switch for superobesity / T.T. Søvik [et al.] // Br.J . Surg. – 2010. - Vol. 97, №2. – P. 160–166.
10. В.В.Салухов, М.С.Блэк, А.В.Барсуков, М.А.Харитонов, Т.С.Свеклина, Е.В.Васильев. / Перспективы бariatрических вмешательств у пациентов с метаболическим синдромом. Consilium Medicum. 2017; 10: 123-131.
11. Stebunov S. Shilo R. Glinnik A. Failure of the suture line after sleeve gastrectomy/ Polish Journal of science. - №8 (2018). Vol.1. P34-39.
12. Stebunov S. Shilo R. Glinnik A. 12 years experience of performing laparoscopic gastric banding. Polish Journal of science. - №9 (2018). Vol.1. P24-28.

THE STUDY OF THE IMMUNOMODULATING EFFECT OF BCAA IN RATS IN THE EXPERIMENT

Trushina E.

*candidate of medical sciences leading researcher
of "Federal Research Centre of nutrition and biotechnology".*

Timonin A.

*candidate of biological sciences junior researcher
of "Federal Research Centre of nutrition and biotechnology".*

Ryger N.

*doctor of medicine, professor, chief specialist
of "Federal Research Centre of nutrition and biotechnology".*

Vybornov V.

*head of the Department of Medical and Biological Support
of the State budgetary educational institution of Moscow "Sport and Education Center Sambo-70".*

Mustafina O.

*candidate of medical sciences senior researcher
of "Federal Research Centre of nutrition and biotechnology"*

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ВСАА У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Трушина Э.Н.

*кандидат медицинских наук ведущий научный сотрудник
ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии"*

Тимонин А.Н.

*кандидат биологических наук младший научный сотрудник
ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии"*

Ригер Н.А.

*доктор медицинских наук, профессор главный специалист
ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии"*

Выборнов В.Д.

*начальник отдела медико-биологического обеспечения
ГБОУ г. Москвы "Центр спорта и образования "Самбо-70"*

Мустафина О.К.

*кандидат медицинских наук старший научный сотрудник
ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии"*

Abstract

Work is dedicated to studying the effect of BCAAs on hematological parameters and cellular mechanisms of cytokine synthesis in order to assess their immunomodulating activity in Wistar male rats on a modified Ferhulst-Pearl mathematical model with cyclic starvation. The study found that the addition of BCAA to the diet of rats provides a statistically significant increase in the content of lymphocytes in serum compared with this indicator in rats of group O-2 (without the addition of BCAA). Consumption of rats BCAA for 60 days with cyclical starvation causes a decrease in the level of IL-10 and an increase in the levels of IL-1 α and IL-2 due to the activation of signaling pathways that regulate the switching of the Th2 immune response to predominant production cytokines Th1.

Аннотация

Работа посвящена изучению влияния BCAA (branched-chain amino acids) на гематологические показатели и клеточные механизмы синтеза цитокинов с целью оценки их иммуномодулирующей активности у крыс-самцов линии Вистар на модифицированной математической модели Ферхюльста-Пирла с циклическим голоданием. В результате исследования установлено, что добавление в рацион крыс BCAA обеспечило статистически достоверное повышение содержания лимфоцитов в сыворотке крови по сравнению с данным показателем у крыс группы О-2 (без добавления BCAA). Потребление крысами BCAA в течение 60 дней на фоне циклического голодания вызвало снижение уровня IL-10 и возрастание уровней IL-1 α и IL-2 за счет активации сигнальных путей, регулирующих переключение Th2-иммунного ответа на преимущественную продукцию цитокинов Th1.

Keywords: immunity, cytokines, lymphocytes, Ferhulst-Pearl model.

Ключевые слова: иммунитет, цитокины, лимфоциты, модель Ферхюльста-Пирла.

Среди основных широко используемых в спортивном питании компонентов специализированных пищевых продуктов (СПП) или в качестве биологически активных добавок к пище можно выделить аминокислоты с разветвленной цепочкой молекулы (branched-chain amino acids - BCAA): валин, лейцин, изолейцин. Наряду с обширной доказательной базой эффективности применения данных СПП в спортивной практике, имеются разрозненные и неоднозначно интерпретированные результаты их иммуномодулирующего влияния.

Цель исследования - изучение влияния BCAA на гематологические показатели и клеточные механизмы синтеза цитокинов с целью оценки их иммуномодулирующей активности у крыс-самцов линии Вистар на модифицированной математической модели Ферхюльста-Пирла с циклическим голоданием.

Материал и методы исследования. Экспериментальное исследование длительностью 60 дней

выполнено на клинически здоровых крысах самцах линии Вистар, с массой тела 250±5 г. Все животные были разделены на 4 группы (по 10 крыс в каждой группе): крысы контрольной группы (К-группа) получали стандартизованный сбалансированный лабораторный корм для грызунов производства фирмы ООО «Лабораторкорм» (Россия) *ad libitum*. 1-ой опытной группе (О-1-группа) корм давали по схеме: первые сутки – корм *ad libitum*, вторые сутки – голодание (система кормления 1-1), 2-ой опытной группе (О-2-группа) корм давали по схеме: первые сутки – корм *ad libitum*, вторые и третьи сутки – двое суток голодания (система 1-2) без добавления BCAA, 3-ей опытной группе (О-3-группа) корм давали по схеме: первые сутки – корм *ad libitum*, вторые и трети сутки – двое суток голодания (система 1-2) с добавлением BCAA в дозировке 70 мг/кг массы тела в сутки.

Таблица 1

Дизайн эксперимента.

Группы	Режим кормления животных
Контроль	кормление – <i>ad libitum</i>
Опыт 1	кормление – 1 сутки - <i>ad libitum</i> – 1 сутки - голод
Опыт 2	кормление – 1 сутки - <i>ad libitum</i> – двое суток – голод без добавления BCAA
Опыт 3	кормление – 1 сутки - <i>ad libitum</i> – двое суток – голод с добавлением BCAA

В работе использовали следующие методы:

1. Метод мультиплексного иммуноанализа.

Для определения уровня цитокинов: GM-CSF, INF- γ , IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- α в сыворотке крови крыс использовали коммерческий набор для мультиплексного иммуноанализа Bio-Plex Pro Rat Cytokine Th1/Th2 Panel 12-Plex («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Измерения выполняли на мультиплексном анализаторе «Luminex 200» («Luminex Corporation», США).

2. Гематологические показатели определяли на гематологическом анализаторе «Coulter A^CTTM 5

diff OV» производства фирмы «Beckman Coulter Int. S.A». Определяемые параметры: содержание эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, концентрация гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, лейкоцитарная формула, средний объем тромбоцита, относительный объем тромбоцитов в образце цельной крови.

3. Статистические методы обработки полученных результатов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета

прикладных программ IBM SPSS Statistics Version 20. Расчет включал определение выборочного среднего, стандартной ошибки, вероятности принятия нуль-гипотезы о совпадении распределений сравниваемых выборок согласно критерию Стьюдента, Манна-Уитни и ANOVA. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

В экспериментальном исследовании в соответствии с модифицированной моделью Ферхольста-Пирла (ММФП) [1, 2] рассчитывали коэффициенты аппетита А (коэффициенты ММФП). Для вычисления коэффициента ММФП была разработана следующая формула: $A = m^2 \cdot (k \cdot e^{\Delta t} - 1) / (e^{\Delta t} - 1)$, где $k = (m_0/m)^2$, Δt – продолжительность голодания, m – удельное потребление корма животным в сутки после голодания известной продолжительности, m_0 – удельное потребление корма животным в сутки при *ad libitum*. Биологический смысл и значимость модели ММФП сводится к оценке воздействия исследуемого фактора на испытуемое животное в эксперименте *in vivo* с помощью расчетного коэффициента ММФП. Если при биомоделировании голодания исследуемый фактор приводит к отклонению коэффициента ММФП от известного диапазона нормы, тогда данное воздействие следует расценивать как патологическое. Для доказательства верности модели следует доказать два тезиса: тезис о принципе стабильности коэффициента и тезис о том, что при нарушении принципа стабильности всегда следует интерпретировать экспериментальное воздействие на модельный объект (лабораторное животное) как патологическое. Доказательства сводятся к подтверждению ряда условий. Условием стабильности коэффициента ММФП является нахождение хотя бы двух режимов кормления

опытных групп, при которых значения коэффициентов не имеют достоверных отличий. Условием нарушения принципа стабильности коэффициента ММФП следует считать нахождение хотя бы одного режима кормления, для которого этот принцип не соблюдается. Условием однозначной интерпретации присутствующего патологического воздействия при нарушении принципа стабильности коэффициента является установление достоверно большей выживаемости групп, для которых принцип стабильности не нарушен по сравнению с группой, для которой этот принцип нарушен. При этом, среди групп, для которых принцип стабильности соблюдается, должна быть хотя бы одна группа, выживаемость которой не имеет статистически значимых отличий от группы, система кормления которой *ad libitum* (контрольная группа).

Результаты и обсуждение.

Коэффициенты аппетита А в модифицированной модели Ферхольста-Пирла (ММФП). В экспериментальном исследовании в соответствии с модифицированной моделью Ферхольста-Пирла (ММФП), рассчитывались коэффициенты аппетита А (коэффициенты ММФП). При сравнительном анализе коэффициентов ММФП на первом этапе эксперимента с использованием однофакторного дисперсионного анализа, t-критерия и F-критерия было установлено, что между режимами голодания системы 1-1 и 1-2 наблюдаются достоверные отличия как без добавления ВСАА, так и с добавлением ВСАА. При этом добавление ВСАА в используемой дозировке (гр. О-3) не приводят к статистически значимым различиям коэффициента ММФП для аналогичного режима кормления, но без его добавления (опыт 2).

Таблица 2

Коэффициент ММФП.

Схема 1-1	Схема 1-2 без ВСАА	Схема 1-2 с ВСАА
5,0±0,1	7,4±0,3 ¹	7,4±0,3 ¹

1 – достоверное отличие от режима кормления по схеме 1-1 при уровне значимости $p < 0,05$

Влияние ВСАА на гематологические показатели крыс при различных режимах голодания. Ре-

зультаты гематологических исследований и иллюстрации к ним представлены в табл. 3 и на рисунках 1-5.

Таблица 3

Гематологические показатели крыс.

Показатели	контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Норма [3]
Общее количество эритроцитов, $10^{12}/\text{л}$	8,33±0,10	8,36±0,29	7,40±0,26 ^{1,2}	7,41±0,17 ^{1,2}	4,4-8,9
Концентрация гемоглобина, г/л	147,4±1,5	149,0±4,2	132,6±3,7 ^{1,2}	133,3±3,1 ^{1,2}	86-173
Гематокрит, %	44,2±0,5	45,0±1,4	40,0±1,2 ^{1,2}	40,2±0,9 ^{1,2}	31,4-51,9
Средний объем эритроцита, $\mu\text{м}^3$	53,1±0,6	53,8±0,6	54,0±0,5	54,3±0,3	50,6-93,8
Среднее содержание Hb в эритроците, пг	17,7±0,2	17,9±0,2	17,9±0,2	18,0±0,1	13,4-26,1
Средняя концентрация Hb в эритроците, г/л	333±1	332±2	332±2	331±1	247-368
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	7,3±0,4	8,5±0,8	6,5±0,7	6,4±0,4	1,4-34,3
Базофилы, %	0,70±0,16	0,65±0,11	0,57±0,10	0,60±0,13	0-1
Эозинофилы, %	2,38±0,23	2,76±0,32	2,90±0,33	2,71±0,30	0,0-5,5

Нейтрофилы, %	$21,8 \pm 1,7$	$24,7 \pm 4,9$	$32,2 \pm 4,3$	$26,6 \pm 2,3$	0,4-53,8
Лимфоциты, %	$68,6 \pm 1,3$	$63,4 \pm 4,6$	$54,7 \pm 2,1^1$	$61,6 \pm 2,7^{1,3}$	42,3-98,0
Моноциты, %	$6,54 \pm 0,52$	$8,54 \pm 0,68^1$	$9,57 \pm 1,00^1$	$8,23 \pm 0,32^1$	8,1-16,8
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	588 ± 8	615 ± 24	692 ± 40	684 ± 27	409-1250
Средний объем тромбоцита, $\mu\text{м}^3$	$6,01 \pm 0,04$	$6,04 \pm 0,12$	$5,89 \pm 0,11$	$6,14 \pm 0,17$	5,0-8,0
Тромбокрит, %	$0,35 \pm 0,05$	$0,37 \pm 0,11$	$0,41 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,01$	0,2-0,5

Примечание: 1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p < 0,05$

2 – достоверное отличие от 1-ой опытной группы при уровне значимости $p < 0,05$

3 – достоверное отличие от 2-ой опытной группы при уровне значимости $p < 0,05$

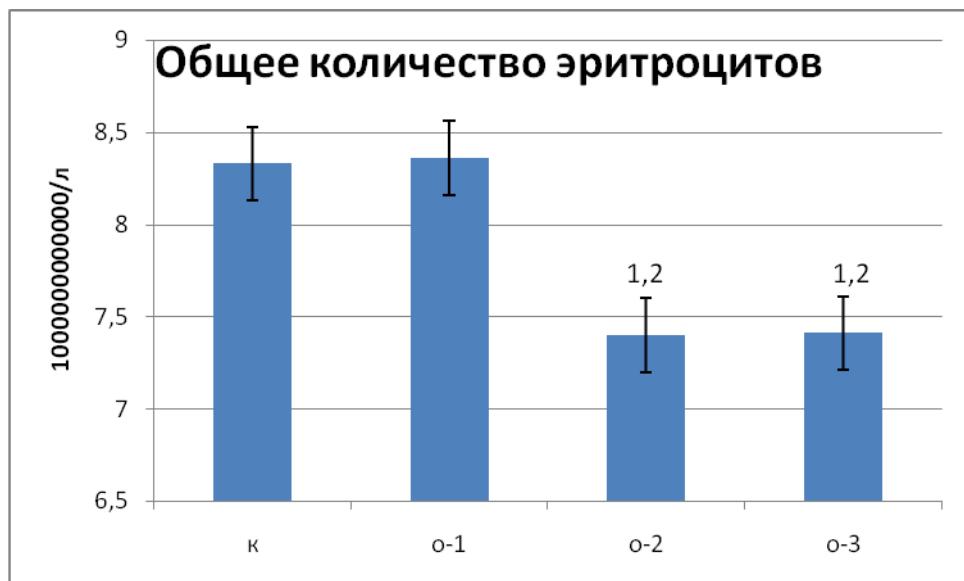


Рис. 1. Общее количество эритроцитов у крыс контрольной и опытных групп.

1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p < 0,05$

2 – достоверное отличие от 1-ой опытной группы при уровне значимости $p < 0,05$

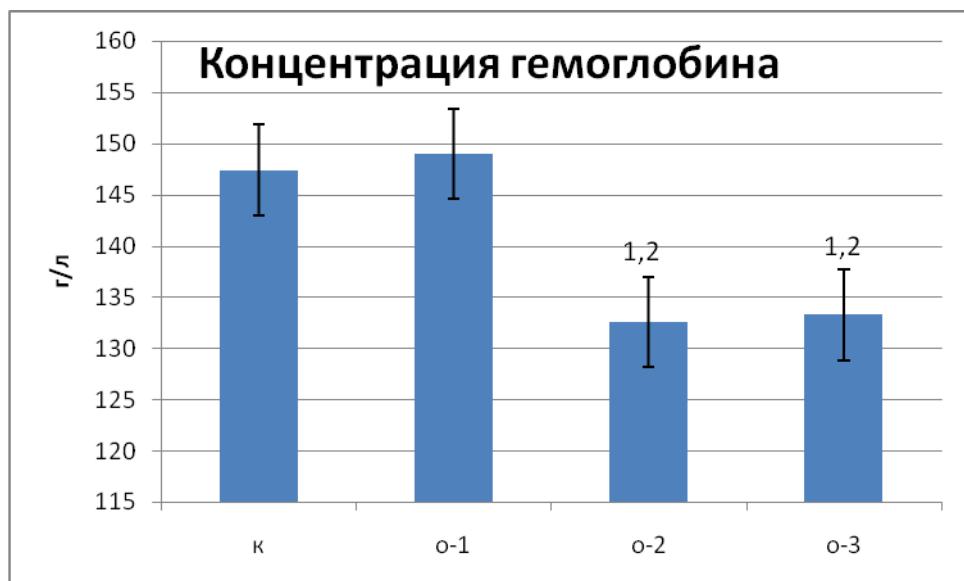


Рис. 2. Концентрация гемоглобина у крыс контрольной и опытных групп.

1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p < 0,05$

2 – достоверное отличие от 1-ой опытной группы при уровне значимости $p < 0,05$

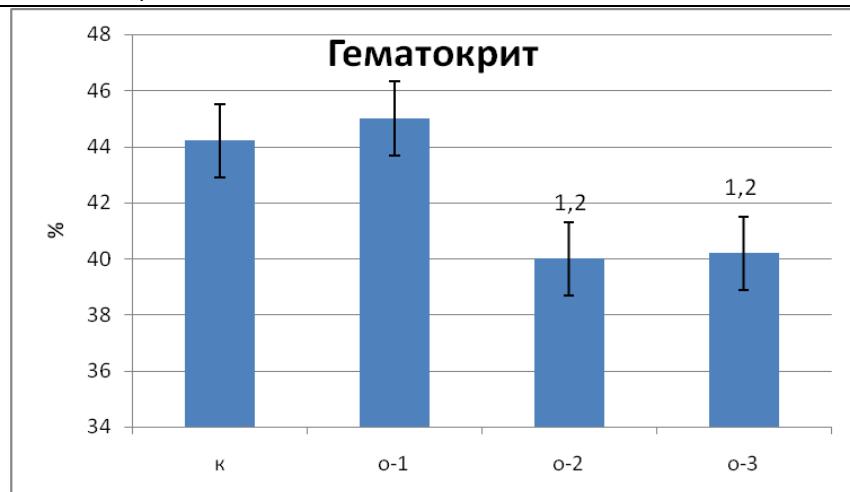


Рис.3. Величина гематокрита у крыс контрольной и опытных групп.

1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p<0,05$

2 – достоверное отличие от 1-ой опытной группы при уровне значимости $p<0,05$

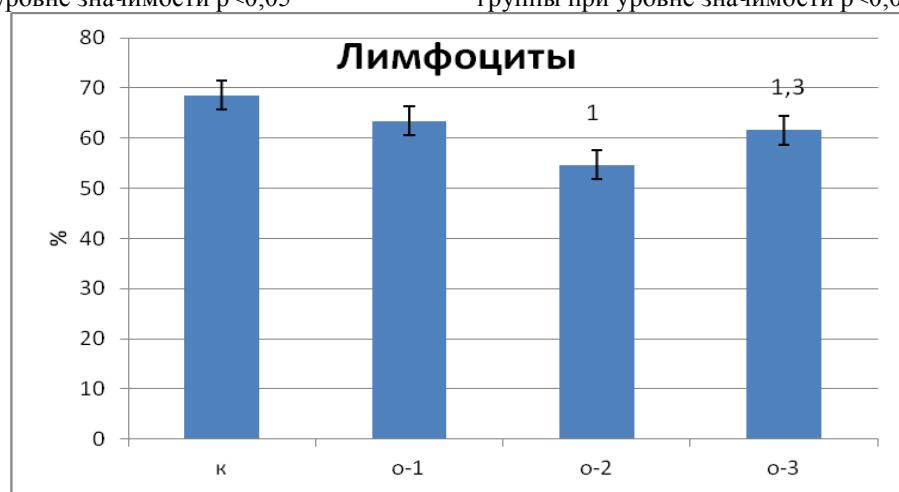
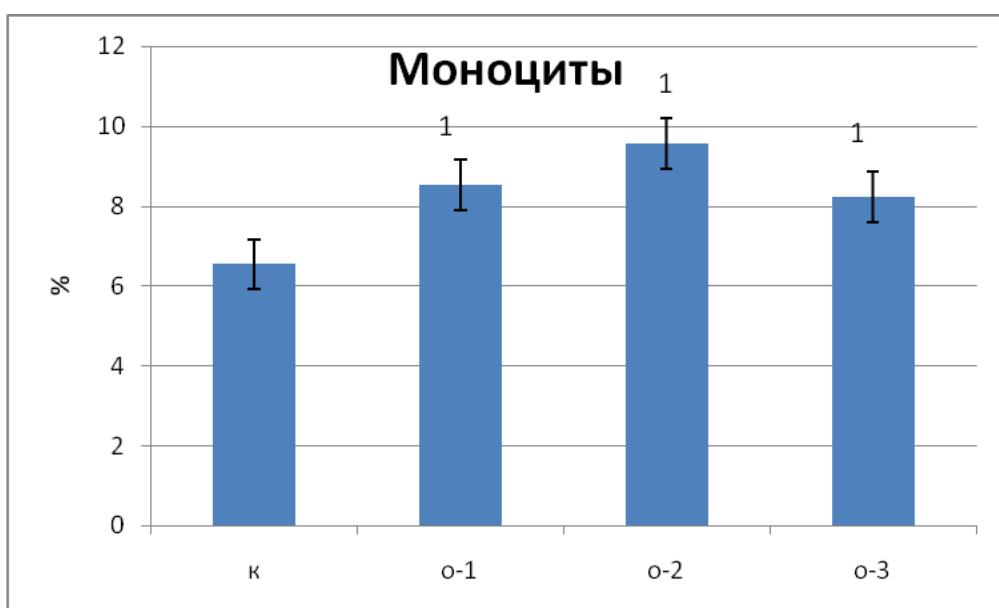


Рис. 4. Относительное содержание лимфоцитов у крыс контрольной и опытных групп.

1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p<0,05$

3 – достоверное отличие от 2-ой опытной группы при уровне значимости $p<0,05$

Рис.5. Относительное содержание моноцитов у крыс контрольной и опытных групп. 1 – достоверное отличие от контрольной группы при уровне значимости $p<0,05$

В результате исследования установлено достоверное отличие между контрольной и 1-ой опытной группой только в отношении содержания моноцитов: содержание моноцитов в контрольной группе было на 31% меньше, чем в 1-ой опытной группе (О-1) (табл. 3, рис. 5).

Системные отличия были установлены как для контрольной, так и для 1-ой опытной группы при сравнении со 2-ой (О-2) и 3-ей (О-3) опытными группами в отношении показателей, характеризующий уровень гемоглобина в крови. Так, контрольная и 1-ая опытная группы по концентрации эритроцитов, гемоглобина и гематокрита на 10% превышали по величине аналогичные показатели 2-ой и 3-й опытных групп (табл. 3, рис. 1-3). Установленный достоверный статистический отклик однозначно указывает на существующий значимый биологический эффект в отношении синтеза гемоглобина в условиях голодаия, при котором статистически достоверно изменяется величина коэффициента ММФП. Установлено, что между контрольной и 2-ой и 3-й опытными группами существует достоверное отличие по уровню содержания лимфоцитов: относительное содержание лимфоцитов в контрольной группе было на 20% больше, чем во 2-ой опытной группе и на 10% больше, чем в 3-й опытной группе (табл. 3, рис. 4). Добавление ВСАА в рацион крыс привело к статистически достоверному повышению относительного содержания лимфоцитов по сравнению со 2-ой опытной группой (табл. 3, рис. 4).

Относительное содержание моноцитов у крыс всех опытных групп статистически достоверно превышало данный показатель у крыс контрольной группы (табл. 3, рис. 5).

Результаты проведенного анализа позволяют однозначно выявить биологически значимое воздействие режима голодаия по схеме 1-2 на гематологические показатели, связанные с транспортом кислорода (уменьшение концентрации гемоглобина, гематокрита и содержанию эритроцитов). Тем не менее, ни один из исследуемых показателей не вышел за пределы нормы, что позволяет рассматривать данное воздействие как биологически значимое, но в пределах адаптационного потенциала организма. При сравнении 2-ой и 3-й опытных групп, доказательно учитывая значимое понижение адаптационного потенциала в пределах нормального диапазона колебания исследуемых гематологических показателей, выявлено статистически достоверное повышение относительного содержания лимфоцитов между анализируемыми 2-ой и 3-й

группами, что свидетельствует об активирующем влиянии ВСАА на пул лимфоцитов. Также из эксперимента следует, что значимое биологическое влияние режима голодаия по схеме 1-2 статистически достоверно отличалось от схемы 1-1 при сравнении коэффициента ММФП, что указывает на адекватность предложенной модели в условиях аппаратурного интерпретирования статистического отклика и существующего биологически значимого эффекта.

Таким образом, можно сформулировать следующий вывод: если режим голодаия вызывает статистически достоверное изменение коэффициента ММФП, тогда такой режим голодаия представляет собой самостоятельный фактор биологически значимого воздействия на испытуемый организм. В этом случае, использование модифицированной математической модели Ферхольста-Пирла представляет собой перспективный инструмент при организации и планирования многофакторного эксперимента по типу «серого ящика» с применением методов полноблочных моделей планирования по схеме латинского квадрата.

Влияние ВСАА на цитокиновый профиль крыс при различных режимах голодаия.

Не смотря на то, что эффекты различных аминокислот на функции иммунитета представляют большой интерес, влияние ВСАА на функциональное состояние иммунной системы остается малоизученным. Культуральные исследования показали, что присутствие ВСАА абсолютно необходимо лимфоцитам для синтеза белков, РНК и ДНК в ответ на стимулирующее воздействие. Кроме того, ВСАА участвуют в метаболизме других клеток, принимающих участие в регуляции иммунитета [4].

В обзорах литературы приводится достаточно много свидетельств иммунотропного влияния и единичные исследования, описывающие влияние ВСАА на продукцию цитокинов у животных и человека [5, 6]. В связи с этим целью проведённой работы было исследование системного воздействия ВСАА на уровни цитокинов Th1/Th2 у самцов крыс линии Вистар.

При оценке изменений цитокинового профиля Th1/Th2 не было выявлено достоверных различий для большинства показателей (табл. 4). Изменения обнаружены только в уровне IL-10 между опытными группами, в уровне IL-1a между контролем и группой ВСАА (голод+ ВСАА) и в уровне IL-2 между контролем и группой 2 (голод) (табл. 4, рис. 6 a, d, c).

Таблица 4

**Уровень цитокинов (pg/ml) у самцов линии Вистар
при циклическом голодании в течение 60 дней.**

Показатели:	контроль	группа О-2	группа О-3
GM-CSF	0.130 ± 0.083	0.120 ± 0.078	0.110 ± 0.083
IFN-g	0.220 ± 0.131	0.230 ± 0.084	0.200 ± 0.117
IL-10	0.270 ± 0.119	0.260 ± 0.116	0.210 ± 0.087** (*)
IL-12(p70)	1.560 ± 0.423	1.790 ± 0.801	1.390 ± 0.745
IL-13	0.640 ± 0.171	0.650 ± 0.525	0.640 ± 0.441
IL-1a	0.240 ± 0.091	0.250 ± 0.062	0.290 ± 0.103*
IL-1b	0.180 ± 0.119	0.220 ± 0.166	0.180 ± 0.119
IL-2	4.370 ± 1.843	3.230 ± 0.678*	3.660 ± 1.962
IL-4	0.090 ± 0.038	0.090 ± 0.035	0.090 ± 0.057
IL-5	6.310 ± 2.041	5.350 ± 1.762	5.400 ± 1.861
IL-6	1.420 ± 0.581	1.570 ± 0.539	1.390 ± 0.549
TNF-a	0.740 ± 0.272	0.750 ± 0.429	0.790 ± 0.312

Примечание: * - P<0.05 в сравнении с контролем; ** - P<0.05 в сравнении между 2 и 3 группами.

Само голодание (гр.О-2) незначительно влияло на содержание IL-10 в сыворотке крови животных. Потребление крысами BCAA способствовало умеренному снижению уровня IL-10 по сравнению с контролем и гр.О-2 (рис. 6a). Голодание также значимо не влияло на уровень IL-1a (рис. 6b). Но добавление в рацион BCAA вызвало достоверное увеличение уровня этого цитокина в сыворотке крови

в 3-й группе животных (О-3) (рис. 6b.). На динамику IL-2 влияние BCAA также оказалось положительным. Голодание привело к значимому снижению уровня IL-2 в сыворотке крови по сравнению с контролем. Добавление BCAA в рацион способствовало увеличению уровня IL-2 в 3-й группе (О-3) с отсутствием достоверных различий по сравнению с контролем (рис. 6c.).

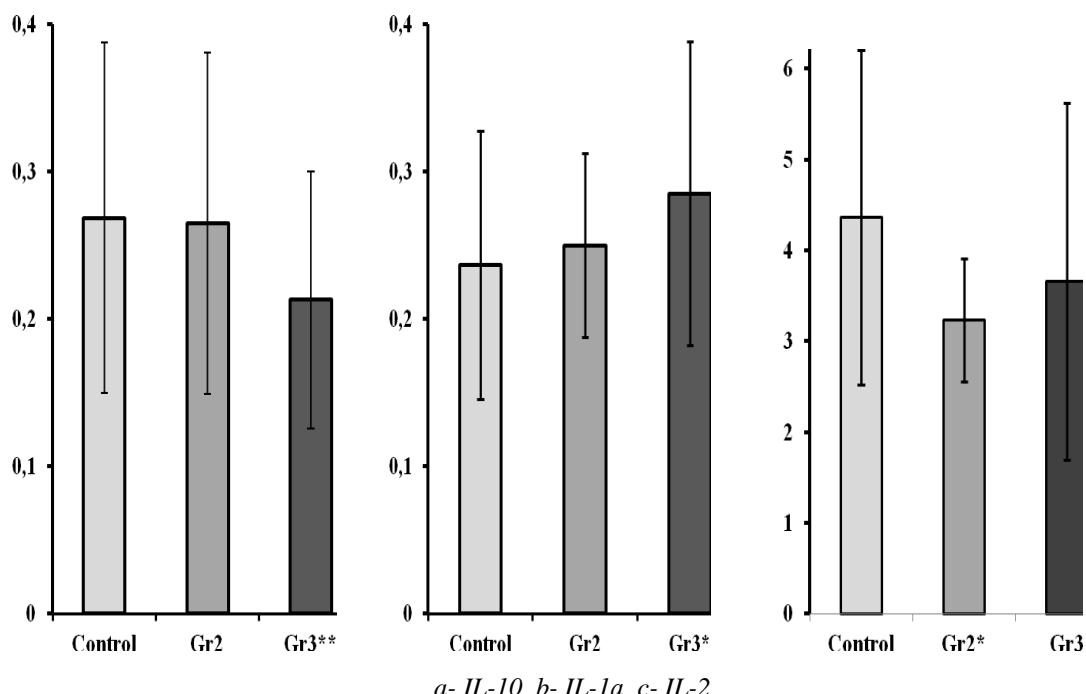


Рис. 6 а, б, с. Изменение уровней цитокинов на фоне циклического голодания.

По оси Y - уровень цитокинов pg/ml;

Control - контрольная группа; Gr2 - циклическое голодание (О-2); Gr3 - циклическое голодание на фоне добавления в рацион BCAA (О-3).

* - P<0.05 в сравнении с контролем.

** - P<0.05 в сравнении с контролем и группой О-2.

Общеизвестно, что дефицит макро- и микронутриентов при голодании вызывает атрофию лим-

фоидной ткани. Это означает уменьшение количества циркулирующих лимфоцитов, что является следствием угнетения синтеза ДНК и клеточной пролиферации. Снижение гуморального иммунитета также происходит за счет сокращения популяции антителопродуцентов и снижения синтеза иммуноглобулинов. Это приводит к различным иммунодефицитным состояниям. Снижение количества CD4+ более значимо, CD8+ - однако менее выра-

жено. В результате значительно уменьшается соотношение CD4+/CD8+, свидетельствующее о нарастающей иммуносупрессии. Происходит редукция продукции Т-клеточных цитокинов и Тлимфоциты демонстрируют снижение активности в ответ на цитокиновую стимуляцию. Снижается уровень комплемента, и фагоцитоз также испытывает негативное влияние дефицита протеинов. Это приводит к различным иммунодефицитным состояниям [7, 8]. В нашем исследовании голод у животных вызывал изменения уровней ряда цитокинов: IL-1 α , IL-2 и IL-10 (табл. 4, рис.6 а, б, с).

В условиях голода добавление в рацион BCAA может оказывать определенное иммунотропное действие за счет влияния на синтез белков, РНК и ДНК в ответ на стимулирующее воздействие. BCAA участвуют в метаболизме практически всех клеток, принимающих участие в регуляции иммунного ответа [4, 5, 9]. Повышение уровня BCAA, индукция окислительных процессов в клетках, вызывают активацию mTOR сигнального пути и способствует снижению уровня TGF- β 1, IL-6, и IL-10 [9]. Этот механизм может объяснить снижение уровня IL-10 при добавлении BCAA по сравнению контролем и группой крыс, не получавших смесь аминокислот (рис. 6а). На этом фоне активация сигнальных путей способствует переключению Th2-иммунного ответа на преимущественную продукцию цитокинов Th1 и супрессии Treg-клеток [5, 10]. Результатом этих влияний BCAA становится увеличение уровня IL-1 α (рис. 6б) и восстановление в 3-й группе (О-3) достоверно сниженного во 2-й группе при голода животных IL-2 (рис. 6с) до уровня у контрольных животных.

Таким образом, по результатам экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Статистически достоверное отличие коэффициента ММФП при режимах голода крыс по схеме 1-1 и 1-2 указывает на адекватность предложенной модели в условиях аппаратного интерпретирования статистического отклика и существующего биологически значимого эффекта.

2. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о биологически значимом воздействии режима голода крыс по схеме 1-2 на гематологические показатели, характеризующие состояние эритроцитов (уменьшение концентрации гемоглобина, гематокрита и содержания эритроцитов).

3. Циклическое голодание крыс по схеме 1-1 и 1-2 вызывает повышение относительного содержания моноцитов в периферической крови и снижение относительного содержания лимфоцитов при режиме голода 1-2. Добавление в рацион крыс

BCAA (группа О-3) обеспечивает статистически достоверное повышение содержания лимфоцитов по сравнению с данным показателем у крыс группы О-2 (без добавления BCAA).

4. Потребление крысами BCAA (группа О-3) в течение 60 дней на фоне циклического голода вызывает снижение уровня IL-10 и возрастание уровней IL-1 α и IL-2 за счет активации сигнальных путей, регулирующих переключение Th2-иммунного ответа на преимущественную продукцию цитокинов Th1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. // М.: Изд-во ВПК. 2004. 608 с.
2. Думачев В.Н., Родин В.А. Поведение решений системы рекуррентных уравнений на базе модели Ферхюльста-Пирла// Вестник Воронежского института МВД России.- 2009.- № 3.- С. 129-134.
3. Мустафина О.К., Трушина Э.Н., Шумакова А.А., Арианова Е.А., Тышко Н.В., Пащорина В.А. Гематологические показатели у крыс Вистар различного возраста, содержащихся на полусинтетическом полноценном виварном рационе.//Вопросы питания.- 2013.- Т. 82.- № 2.- С. 10-16.
4. Calder P.C. Branched-Chain Amino Acids and Immunity//The Journal of Nutrition.- 2006.- Vol. 136.- Issue 1.- P.288S-293S.
5. Md. Moniruzzaman, A.Ferdouse/ Metabolic and Physiological Roles of Branched-Chain Amino Acids// Advances in Molecular Biology. 2014.- Article ID 364976, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/364976>.
6. Koo G.H., Woo J, Kang S and Shin K.O.Effects of Supplementation with BCAA and L-glutamine on Blood Fatigue Factors and Cytokines in Juvenile Athletes Submitted to Maximal Intensity Rowing Performance.// J. Phys. Ther. Sci.- 2014.-Vol. 26.-P. 1241–1246.
7. Chandra R.K., 1990. Nutrition and immunity: lessons from the past and new insights into the future// Am. J. Clin. Nutr.-1991.-Vol. 53.-P.1087.
8. Catherine G. R. Jackson. Nutrition and the Strength Athlete// - 2000 - Health & Fitness; ISBN-0-8493-8198-3., P. 175-192.
9. Khedr NF, Khedr EG. Branched chain amino acids supplementation modulates TGF- β 1/Smad signaling pathway and interleukins in CCl4 -induced liver fibrosis.//Fundam. Clin. Pharmacol. 2017.-Vol.31.- P.534-545.
10. Bassit R. A, Sawada L. A, Bacurau R. F. P. et al. Branched chain aminoacid supplementation and the immune response of long-distance athletes.// Nutrition.-2002.-Vol.18.-P.376–379.

PHARMACEUTICS

ANALYSIS OF TECHNOLOGY FOR PLANT EXTRACT PRODUCTION USING THE MATHEMATICAL MODELING METHOD

Kukhtenko O.

Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Vice-Rector for Scientific and Pedagogical (Educational) Work of the National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

ORCID: 0000-0003-4908-6717

Gladukh Ie.

Doctor of Pharmacy, Professor,

Head of the Industrial Pharmacy Department of the National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

ORCID: 0000-0002-5739-9257

Kharkiv, 53, Pushkinska str, 61002

Abstract

Upon receipt of a sedative action liquid extract based on valerian root, motherwort herb, hop seedballs and peony roots by percolation the influence of a number of factors extractant (ethanol) concentration , extraction ratio and infusion time before the extraction process on the yield of extractive substances and active components (hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid) has been studied. The studies have been carried out using mathematical planning by a three-phase fractional experiment plan based on a 4x4 Latin square. According to the data obtained, the optimal conditions for the extraction are the use of 70% ethanol, the extraction multiplicity 4, the process of infusion 24 hours before actually percolation.

Keywords: Mathematical planning of the experiment, extract, hydroxycinnamic acids, the yield of extractive substances, factors.

To date, worldwide trends are increasing towards the use of medicinal products based on medicinal plant materials (MPM). These drugs have several advantages over synthetic ones, the main of which can be called the minimal side effects on the patient's body with possible high therapeutic activity. However, the therapeutic activity of a medicinal product based on plant raw materials depends not only on the raw material itself, but also on the technology for obtaining and isolation of active components for their further use in the preparation of finished dosage forms. Particularly important the technology for the production of active substances (complexes of substances) is in the development of preparations of complex compositions, comprising several types of MPM [1,2].

We have carried out a study of the pharmaceutical market of Ukraine, on the basis of which it was proposed to develop a line of ready-made dosage forms of sedative action with the content of the extract obtained from valerian roots, motherwort herb, hop seedballs and peony roots [2].

Extracting is a complex pharmaco-technological process, in which a significant number of factors affect the yield of the finished product .The main factors are: method of extraction (percolation, maceration, ultrasonic extraction, etc.), type and nature of the raw materials used (humidity, degree of grinding, initial content of active substances in the raw material), nature of the

extractant (its polarity, concentration), extraction conditions (temperature, pressure, process intensification), etc.

Taking into account the preliminary research and analysis of the instrumentation of pharmaceutical enterprises in Ukraine, we have chosen percolation method with presoaking and infusion of raw materials. Using as unchanged factors the moisture content of the raw materials, the degree of grinding and standard percolation conditions (temperature 25 ° C, pressure 740 mm Hg) of the total mixture of components for obtaining the liquid extract, we have been tasked to determine the effect of the extractant, the extraction multiplicity and the time of raw material infusion on the yield of extractives and active components of the extract (the presence of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid).

Variation of variable factors in the analysis of extract production can lead to a significant amount of research, which will affect the development time of the drug and its cost. It is advisable to use mathematical planning of the experiment when conducting this study.

For the study 12 factors were selected, in 3 groups: the concentration of the extractant, the multiplicity of raw materials extraction, the time of infusion before the process of actually extraction (Table 1). To study the influence of 3 factors, each of which was taken at 4 levels, a three- phase fractional design of the experiment was used based on the 4x4 Latin square (Table 2) [3,4,5].

Table 1

Factors and their levels, which were studied in the process of the extract production technology optimization

Factors	Factor levels
A - concentration of the extractant	a ₁ - ethyl alcohol 40% a ₂ - ethyl alcohol 50% a ₃ - ethyl alcohol 60% a ₄ - ethyl alcohol 70%
B - the multiplicity of raw materials extraction	b ₁ - the multiplicity of extraction = 2 b ₂ - the multiplicity of extraction = 3 b ₃ - the multiplicity of extraction = 4 b ₄ - the multiplicity of extraction = 5
C - time of infusion before the extraction process	c ₁ - 12 hours c ₂ - 24 hours c ₃ - 36 hours c ₄ - 48 hours

Table 2 shows the research data obtained from the extraction of raw materials using various combinations of factors and their levels.

Table 2

Three-phase fractional experiment plan based on the Latin 4 * 4 square and the results of the active components presence

No.	A	B	C	y ¹	y ²
1	a ₁	b ₁	c ₁	0.025	2,150
2	a ₁	b ₂	c ₂	0,033	8,220
3	a ₁	b ₃	c ₄	0.092	12,140
4	a ₁	b ₄	c ₃	0.100	10,130
5	a ₂	b ₁	c ₂	0.050	6,110
6	a ₂	b ₂	c ₁	0.056	2,240
7	a ₂	b ₃	c ₃	0.085	11,750
8	a ₂	b ₄	c ₄	0,120	10,150
9	a ₃	b ₁	c ₃	0.075	9,800
10	a ₃	b ₂	c ₄	0.108	12,280
11	a ₃	b ₃	c ₁	0.114	13,080
12	a ₃	b ₄	c ₂	0.130	14,750
13	a ₄	b ₁	c ₄	0,102	13,600
14	a ₄	b ₂	c ₃	0.118	13,200
15	a ₄	b ₃	c ₂	0.148	21,240
16	a ₄	b ₄	c ₁	0.135	13,800

Note.

y¹ - hydroxycinnamic acids content in terms of chlorogenic acid, %;

y² - the content of extractives, %;

The dispersion analysis of experimental data with regard to comparison using the Duncan multiple criterion showed the dependence of both extractive and active substances yield on the extraction factors [3].

As can be seen from table 2, the content of hydroxycinnamic acids in the resulting extract varies in the range of 0.025-0.148%. According to the statistical data processing, the acids content significantly depends on the concentration of the extractant and the multiplicity of the raw material extraction (factors A and B). The effect of factor A (the concentration of the extractant) can be described by the inequality a₄ = a₃ > a₂ = a₁, according to which the use of ethyl alcohol 70% and 60% is optimal. In this concentration range, there is almost equal content of hydroxycinnamic acids. The smallest amount of active ingredients is observed in the

extract when using alcohol with a concentration of 50-40%.

The dependence of changes in the raw materials extraction multiplicity on the yield of hydroxycinnamic acids corresponds to the following inequality: b₄ = b₃ > b₂ = b₁. The most optimal is the use of the extraction multiplicity 4-5. The content of the active components in the extract at extraction multiplicity of 4-5 significantly exceeds the parameters of the extract at 2-3 times extraction.

The results of analysis of variance to determine the presence of hydroxycinnamic acids when changing such a factor as the time of infusion (C) showed statistical insignificance, since F_{exp.} < F_{0.05}.

The content of extractives in the obtained extracts ranged from 2.150% to 21.240%. In the study of this parameter, it was determined that all factors affect the yield of extractive substances.

The maximum yield of extractives, as in the example with hydroxycinnamic acids, is observed when using ethyl alcohol 70% as an extractant ($a_4 > a_3 > a_2 = a_1$). The lowest yield of extractives is at alcohol concentration of 40-50%.

Unlike the presence of hydroxycinnamic acids, where the maximum yield was in the experiment with the extraction multiplicity 4 and 5, the yield of extractive substances is maximum at the extraction multiplicity of 4. A decrease or increase in the extraction multiplicity does not lead to an increase in the yield of extractive substances ($b_3 > b_4 > b_2 = b_1$).

A slight difference in the yield of extractive substances depending on the infusion time of 48, 36 and 24 hours ($c_4 = c_3 = c_2 > c_1$) and the minimum yield at the infusion time of 12 hours allows us to conclude that the effective infusion time is 24 hours. It is at this time, as the experiment showed, the yield of extractive substances will be optimal and will not lead to a delay in the process of extract production.

Conclusion. The influence of technological factors on the extraction of medicinal plant materials in the obtaining of a liquid extract of sedative action has been studied. According to the data obtained, the optimal conditions for the extraction are the use of 70% ethyl alcohol, with extraction multiplicity as 4 and the process of infusion before actual percolation for 24 hours.

REFERENCES:

1. Кухтенко О.С. Актуальність розробки препаратів седативної дії на основі рослинної сировини / О.С.Кухтенко, Є.В. Гладух // Современные достижения фармацевтической технологии и биотехнологии: Материалы IV науч.-практ. конф. з міжнар. участию (Харків, 16–17 жовтня 2014 р.) - С. 183.
2. Кухтенко О.С. Маркетингові дослідження сучасного ринку седативних лікарських засобів /О.С. Кухтенко, Є.В.Гладух, А.С.Немченко // East European Science Journal – 2018. – №7(35). – С. – 58-62.
3. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / Т.А. Грошовий, В.П. Марценюк, Л.І. Кучеренко та ін. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – 368 с.
4. Гуреєва С.М. Дослідження фармако-технологічних і біофармацевтичних показників якості таблеток амізону / С.М. Гуреєва // Фармаком. – 2013р. – №2. – С. 20-24.
5. Дарзулі Н. П. Використання грушанки круглолистої в медицині та фармації, перспективи створення нових лікарських засобів на її основі / Н. П. Дарзулі, Т. А. Грошовий // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – № 3. – С. 55–58.

Nº25/2018

Norwegian Journal of development of the International Science

ISSN 3453-9875

VOL.2

It was established in November 2016 with support from the Norwegian Academy of Science.

DESCRIPTION

The Scientific journal “Norwegian Journal of development of the International Science” is issued 12 times a year and is a scientific publication on topical problems of science.

Editor in chief – Karin Kristiansen (University of Oslo, Norway)

The assistant of the editor in chief – Olof Hansen

- James Smith (University of Birmingham, UK)
 - Kristian Nilsen (University Centre in Svalbard, Norway)
 - Arne Jensen (Norwegian University of Science and Technology, Norway)
 - Sander Svein (University of Tromsø, Norway)
 - Lena Meyer (University of Gothenburg, Sweden)
 - Hans Rasmussen (University of Southern Denmark, Denmark)
 - Chantal Girard (ESC Rennes School of Business, France)
 - Ann Claes (University of Groningen, Netherlands)
 - Ingrid Karlsen (University of Oslo, Norway)
 - Terje Gruterson (Norwegian Institute of Public Health, Norway)
 - Sander Langfjord (University Hospital, Norway)
 - Fredrik Mardosas (Oslo and Akershus University College, Norway)
 - Emil Berger (Ministry of Agriculture and Food, Norway)
 - Sofie Olsen (BioFokus, Norway)
 - Rolf Ulrich Becker (University of Duisburg-Essen, Germany)
 - Lutz Jäncke (University of Zürich, Switzerland)
 - Elizabeth Davies (University of Glasgow, UK)
 - Chan Jiang (Peking University, China)
- and other independent experts

1000 copies

Norwegian Journal of development of the International Science

Iduns gate 4A, 0178, Oslo, Norway

email: publish@njd-iscience.com

site: <http://www.njd-iscience.com>