

## **ЦИТОКІНОПОСЕРЕДКОВАНІ ІМУНОРЕАКТИВНІ ЗМІНИ В КОРИ ПІВКУЛЬ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОТОКСИКОЗІ ТА ЙОГО СОРБЦІЙНІЙ КОРЕКЦІЇ**

**ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені**

**І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Дана робота є фрагментом НДР «Структурно-метаболичні зміни кори головного мозку, нирок і печінки, зумовлені хронічною неопластичною інтоксикацією і компонентами цитостатичної терапії, та їх сорбційна корекція», № держ. реєстрації 0113U001276.

**Вступ.** Нервова та імунна системи мають певні загальні риси у принципах свого функціонування: тільки ці дві системи здатні до розпізнавання і запам'ятовування об'єкта, тобто є структурами, що володіють пам'яттю. Імунокомпетентні клітини (в основному, лімфоцити) мають рецептори для низки нейромедіаторів, а саме до ацетилхоліну, дофаміну, енкефалінів і ендорфінів. У той же час мозок є ізольованим від імунної системи і належить до так званих «забар'єрних» органів, в яких у нормальних умовах розвиток імунної відповіді є практично неможливим. Це пов'язане з відсутністю звичайного лімфатичного дренажу мозку, низьким рівнем експресії молекул МНС (major histocompatibility complex) на клітинах мозку, а також із наявністю гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) [5,6]. Всі ці фактори, а особливо наявність чіткого анатомічного розмежування між імунною системою та нервовою тканиною, дають можливість розглядати ЦНС як імунологічно привілейований орган. Однак, не дивлячись на відсутність або майже відсутність у ЦНС дендритних клітин, Т- і В-лімфоцитів, різні форми імунної відповіді можуть виникати і розвиватися при відповідних умовах як в центральній, так і в периферичній нервовій системі. Однією з причин цього є те, що активовані Т-лімфоцити здатні проникати через ГЕБ з метою забезпечення імунного нагляду [2].

Важливим також є той факт, що гліальні клітини, які виконують роль фагоцитуючої системи ЦНС, при активації здатні до синтезу різних цитокінів [8–10]. При підвищенні проникності ГЕБ, яка виникає внаслідок розвитку патологічного процесу, а також може бути індукована прозапальними цитокінами, що синтезуються активованими Т-клітинами, до ЦНС можуть проникати і специфічні антитіла, внаслідок чого виникатиме опосередкована антитілами клітинна цитотоксичність, яка призведе до загибелі

клітин-мішеней. Потрібно зазначити, що формування і розвиток будь-якого типу імунної відповіді у ЦНС є небажаним явищем і завжди призводить до виникнення того чи іншого патологічного процесу. Враховуючи те, що основним ініціатором і елонгатором такої імунної відповіді є саме Т-лімфоцити, важливою є їх швидка елімінація з нервової тканини з метою обмеження аутоімунного запального процесу в органах ЦНС. Одним із шляхів елімінації Т-клітин із вогнищ запалення є активація процесів їх апоптозу і некрозу [1].

З огляду на вищевикладене **метою роботи** було дослідження вираженості процесів апоптозу CD3-лімфоцитів у тканині соматосенсорної зони (поля 1-2 парієтальної ділянки) кори півкуль головного мозку та визначення змін цитокінового профілю в умовах хронічного ендотоксикозу та при його корекції поліфункціональним вуглецевим ентеросорбентом IV покоління «Карболайн».

**Об'єкт і методи дослідження.** Робота виконана на 50 лабораторних білих щурах з масою тіла ( $190 \pm 5$ ) г, які утримувались у стандартних умовах виварію. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей», а також згідно «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [3,7].

Піддослідні тварини були розділені на такі групи: контрольна – 10 голів; група тварин із хронічним ендотоксикозом (ХЕТ) – 20 голів; група тварин із хронічним ендотоксикозом, яким вводили ентеросорбент «Карболайн» – 20 голів. Хронічний ендотоксикоз моделювали шляхом щоденного внутрішньочеревного введення 30% масляного розчину  $CCl_4$  протягом 5 діб в дозі 0,5 мл/кг на добу, на 6 добу вводили внутрішньочеревинно ліпополісахарид (LPS) E. Coli 0111:B<sub>4</sub> (Sigma) в дозі 0,2 мг/кг маси тіла, на 7 добу маніпуляцій не проводили. Тижневий цикл повторяли 30 діб [4]. Сорбуючий середник вводили щоденно внутрішньошлунково впродовж 21 доби після моделювання хронічного ендотоксикозу.

**Таблиця 1**  
**Вплив сорбенту «Карболайн» на показники апоптозу і некрозу CD3–лімфоцитів у тканині кори півкуль головного мозку за умов хронічної ендотоксемії (M ± m)**

Показник	Група тварин		
	Контроль	ХЕТ	ХЕТ+Карболайн
Апоптоз CD3–лімфоцитів	0,37±0,04	1,99±0,16 ***	0,69±0,04 ###
Некроз CD3–лімфоцитів	0,13±0,02	0,53±0,04 ***	0,28±0,02 ###

**Примітка:** \* – величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у контрольній групі тварин (1. \* – p<0,05; 2. \*\* – p<0,01; 3. \*\*\* – p<0,001). # – величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у групі тварин з ХЕТ, коригованим ентеросорбентом «Карболайн» (1. # – p<0,05; 2. ## – p<0,01; 3. ### – p<0,001).

Добова доза сорбенту «Карболайн» – 1 мл завису на фізіологічному розчині (що відповідає чистій масі вуглецевого сорбенту «Карболайн» 0,2 г) на 100 г маси тіла тварини.

Процеси апоптозу і некрозу CD3–лімфоцитів у тканині кори півкуль головного мозку визначали методом проточної лазерної цитофлюориметрії з використанням анексину V-FITC (для визначення показника апоптозу) та пропідію йодиду (PI) з метою встановлення відсотку лімфоцитів у фазі некрозу за допомогою проточного цитофлюориметра Epics XL («Beckman Coulter», США). Експресію антигену CD3 визначали за допомогою набору моноклональних антитіл Opticlonе серії PN IM 1650 Beckman Coulter (США). Визначення у сироватці крові концентрацій туморнекротичного фактора-альфа (TNFα), інтерлейкіну-1бета (IL-1β), інтерлейкіну-2 (IL-2), інтерлейкіну-4 (IL-4), інтерлейкіну-6 (IL-6) та інтерлейкіну-10 (IL-10) здійснювали імуноферментним методом, використовуючи стандартні набори реактивів, адаптовані для білих щурів: «Enzyme-linked Immunosorbent Assay; Kits for Rat: Tumor Necrosis Factor Alpha (TNFα), Interleukin 1 Beta (IL-1β), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 2 (IL-2), Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 10 (IL-10)», Uscn, Life Science Inc., E90133Ra, E90563Ra, E90079Ra, CSB-E04628r, CSB-E04635r, CSB-E04595r.

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Для дослідження функціонування факторів імунологічної реактивності у тканині кори півкуль великого мозку в умовах хронічної ендотоксемії, індукованої бактерійним LPS E. Coli 0111:V<sub>4</sub> та малими дозами тетрахлорметану, нами здійснено оцінку кількісних показників процесів апоптозу та некрозу CD3–лімфоцитів (маркер CD3 дозволяє ідентифікувати популяцію зрілих Т–лімфоцитів), оскільки саме ці клітини володіють виключною здатністю розпізнавати антигени, формувати та регулювати ефекторну імунну відповідь та імунологічну пам'ять, а також визначено

параметри цитокинового профілю за концентраціями прозапальних (IL-1β, IL-2, IL-6 і TNFα) і протизапальних (IL-4, IL-10) цитокинів.

Встановлено, що в корі головного мозку здорових білих щурів показник апоптозу CD3–лімфоцитів складав (0,37±0,04)%, некрозу – (0,13±0,02)%. При введенні токсичних середників піддослідним тваринам спостерігалось зростання показника апоптозу досліджуваних клітин до (1,99±0,16)%; некрозу – до (0,53±0,04)%, що перевищувало такі ж показники у групі неуразених тварин у 5,4 раза (p<0,001) та у 4,1 раза (p<0,001) відповідно. В умовах застосування у якості коригуючого дезінтоксикаційного середника ентеросорбенту «Карболайн» відмічено зниження активності процесів апоптозу і некрозу CD3–лімфоцитів у тканині кори головного мозку. Так, при введенні «Карболайну» піддослідним тваринам спостерігалось зменшення показника апоптозу CD3–лімфоцитів до (0,69±0,04)%; некрозу – до (0,28±0,02)%, що було меншим від аналогічного показника у групі тварин з некоригованим патологічним процесом на 65,5% та на 47,8% відповідно (**табл. 1**).

За умов змодельованого патологічного процесу встановлено суттєві порушення цитокинового профілю, які характеризувалися вираженим зростанням концентрацій прозапальних цитокинів IL-1β, IL-6 та TNFα. Так, вміст IL-1β у групі тварин з ураженням зріс на 56,4% відносно аналогічного показника у групі неуразених тварин (p<0,001). Концентрації IL-6 та TNFα зросли відповідно у 5,6 раза (p<0,001) та у 6,8 раза (p<0,001) у порівнянні з аналогічними показниками у групі контролю.

Одночасно встановлено достовірне зниження концентрації IL-2 у цій групі тварин. За умов змодельованого ураження вміст IL-2 становив (29,06±1,22) пг/мл, тобто був нижчим за аналогічний показник у контрольній групі тварин на 22,7% (p<0,001).

Аналіз отриманого цифрового матеріалу виявив також істотне зростання вмісту протизапальних цитокинів IL-10 і IL-4 у групі тварин з хронічною ендогенною інтоксикацією. Концентрація IL-10 склала (3,64±0,19) пг/мл, тобто перевищувала аналогічний показник у групі здорових тварин у 3,7 рази (p<0,001). Концентрація IL-4 у групі уражених тварин зросла на 60,2% (p<0,001) у порівнянні з контрольним показником і складала (4,79±0,14) пг/мл.

Застосування еферентної детоксикації за допомогою вуглецевого ентеросорбенту «Карболайн» сприяло нормалізації у крові піддослідних тварин концентрацій досліджуваних класів цитокинів (**табл. 2**). Слід вказати, що застосований метод активної детоксикації, не маючи прямого впливу на систему продуцентів цитокинів, дистантно сприяв зниженню концентрацій таких біологічних медіаторів, як IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10 та TNFα.

Таблиця 2

**Вплив сорбенту «Карболайн» на зміни цитокинового профілю піддослідних тварин за умов хронічного ендотоксикозу ( $M \pm m$ )**

Показник	Група тварин		
	Контроль	ХЕТ	ХЕТ+Карболайн
Прозапальні цитокини			
IL-1 $\beta$ , пг/мл	2,73 $\pm$ 0,25	4,27 $\pm$ 0,17***	2,70 $\pm$ 0,14 ###
IL-2, пг/мл	37,57 $\pm$ 1,29	29,06 $\pm$ 1,22***	33,29 $\pm$ 1,29#
IL-6, пг/мл	0,71 $\pm$ 0,04	3,99 $\pm$ 0,25***	2,69 $\pm$ 0,09###
TNF $\alpha$ , пг/мл	1,13 $\pm$ 0,09	7,71 $\pm$ 0,56***	2,76 $\pm$ 0,16###
Протизапальні цитокини			
IL-4, пг/мл	2,99 $\pm$ 0,11	4,79 $\pm$ 0,14***	3,93 $\pm$ 0,14###
IL-10, пг/мл	0,99 $\pm$ 0,11	3,64 $\pm$ 0,19***	2,43 $\pm$ 0,08###

**Примітка:** \* – величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у контрольній групі тварин (1. \* –  $p < 0,05$ ; 2. \*\* –  $p < 0,01$ ; 3. \*\*\* –  $p < 0,001$ ). # – величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у групі тварин з ХЕТ, коригованим ентеросорбентом «Карболайн» (1. # –  $p < 0,05$ ; 2. ## –  $p < 0,01$ ; 3. ### –  $p < 0,001$ ).

Так, концентрація IL-1 $\beta$  статистично достовірно зменшилася на 36,8% у порівнянні з аналогічним показником у групі тварин, яким корекція не проводилася. Аналогічна динаміка до зменшення відмічена при дослідженні концентрації IL-6 (знизилася на 32,6%,  $p < 0,001$ ). Вміст TNF $\alpha$  становив (2,76 $\pm$ 0,16) пг/мл і був нижчим за аналогічний показник у групі тварин з некоригованою патологією на 64,2% ( $p < 0,001$ ).

Концентрації протизапальних цитокинів IL-4 та IL-10 також достовірно знижувались у порівнянні з показниками у групі тварин, яким корекція

змодельованої патології не здійснювалася – на 18,0% і 33,2% відповідно ( $p < 0,001$ ).

Однак слід зазначити, що істотно знижена за умов змодельованого ХЕТ концентрація IL-2 при застосуванні коригуючого чинника все ще залишалася достовірно нижчою від показника контрольної групи тварин, хоча і виявляла тенденцію до зростання.

**Висновки.** Проведене експериментальне дослідження дозволяє зробити висновок про те, що за умов хронічної інтоксикації, індукованої  $CCl_4$  та LPS E. Coli 0111:B $_4$ , у тканині кори півкуль головного мозку спостерігається виражене посилення процесів апоптозу CD3-лімфоцитів, а також зростання числа Т-клітин у стадії некрозу. Одночасно виявляються суттєві зміни цитокинового профілю, що характеризувалося зростанням всіх досліджуваних класів про- і протизапальних цитокинів, окрім IL-2. Застосування для корекції змодельованого патологічного процесу вуглецевого ентеросорбенту «Карболайн» призводить до суттєвого покращення практично всіх досліджуваних показників імунологічної реактивності в порівнянні з аналогічними у групі тварин із змодельованим хронічним ендотоксикозом.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження, направлені на з'ясування основних принципів функціонування імунної системи мозку, встановлення молекулярних механізмів дії цитокинів на клітини-мішені досліджуваного органа, поглиблення уявлень щодо конкурентних і симбіотичних взаємовідносин між імунокомпетентними та нервовими клітинами є перспективними не тільки для виявлення фундаментальних фізіологічних основ функціонування імунної системи, але й для вивчення розвитку запалення і аутоімунних процесів у ЦНС, а також для створення сучасних підходів до корекції у ній патологічних процесів.

## Література

1. Иммунная система головного мозга / Н. И. Лисяный [и др.]. – К., 1999. – 216 с.
2. Иммунная система головного мозга и цереброспинальной жидкости при нейрохирургической патологии / А. А. Старченко [и др.] // Иммунология. – 2002. – № 4. – С. 250–255.
3. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : Авіцена, 2002. – 156 с.
4. Писарев В. Б. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога / В. Б. Писарев, Н. В. Богомолова, В. В. Новочадов. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2008. – 307 с.
5. Хаитов Р. М. Физиология иммунной системы / Р. М. Хаитов. – М. : Медицина, 2005. – 223 с.
6. Хаитов Р. М. Иммунология. Норма и патология / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И. Г. Сидорович. – М. : Медицина, 2010. – 752 с.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 52 p.
8. Gayle D. A. Lipopolysaccharide (LPS)-induced dopamine cell loss in culture: roles of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and nitric oxide / D. A. Gayle, Z. Ling, C. Tong [et al.] // Brain Res. Dev. Brain Res. – 2002. – Vol. 133, № 1. – P. 27–35.
9. Hamano H. Regulation of brain cell environment on neuronal protection: role of TNFalpha in glia cells / H. Hamano, M. Noguchi, H. Fukui [et al.] // Life Sci. – 2002. – Vol. 72, № 4–5. – P. 565–574.
10. Kong G. Y. Reaction of mouse brain oligodendrocytes and their precursors, astrocytes and microglia, to proinflammatory mediators circulating in the cerebrospinal fluid / G. Y. Kong, K. Kristensson, M. Bentivoglio // Glia. – 2002. – Vol. 37, № 3. – P. 191–205.

УДК 616. 831. 31–097–02:616–008. 6–085. 246. 2]–092. 9

**ЦИТОКИНОПОСЕРЕДКОВАНІ ІМУНОРЕАКТИВНІ ЗМІНИ В КОРИ ПІВКУЛЬ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЕНДОТОКСИКОЗІ ТА ЙОГО СОРЕБЦІЙНІЙ КОРЕКЦІЇ**

**Сорока І. О., Демків І. Я., Сорока Ю. В., Лісничук Н. Є.**

**Резюме.** В умовах експериментально змодельованого хронічного ендотоксикозу, що індукується введенням LPS E. Coli 0111 : B4 і малих доз тетрахлорметану, в тканині кори півкуль великого мозку встановлено істотне зростання показників апоптозу і некрозу CD3- лімфоцитів з одночасним зростанням в крові піддослідних тваринних концентрацій IL – 1 $\beta$  (на 56,4%); IL – 6 (у 5,6 разу); IL – 4 (на 60,2%); IL – 10 (у 3,7 разу); TNF $\alpha$  (у 6,8 разу) і зниженням змісту IL – 2 (на 22,7%). Застосування методу активної детоксикації з використанням поліфункціонального вуглецевого ентеросорбенту IV покоління «Карболайн» сприяло нормалізації показників цитокинового профілю і зниженню в досліджуваному органі кількості як апоптично- так і некротично змінених Т-лімфоцитів.

**Ключові слова:** хронічний ендотоксикоз, цитокини, апоптоз і некроз CD3- лімфоцитів, кора головного мозку.

УДК 616. 831. 31–097–02:616–008. 6–085. 246. 2]–092. 9

**ЦИТОКИНОПОСРЕДСТВОВАНЫЕ ИММУНОРЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОРЕ ПОЛУШАРИЙ БОЛЬШОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОТОКСИКОЗА И ПРИ ЕГО СОРЕБЦИОННОЙ КОРРЕКЦИИ**

**Сорока И. О., Демкив И. Я., Сорока Ю. В., Лисничук Н. Е.**

**Резюме.** В условиях экспериментально смоделированного хронического эндотоксикоза, индуцированного введением LPS E. Coli 0111:B<sub>4</sub> и малых доз тетрахлорметана, в ткани коры полушарий большого мозга установлено существенное возрастание показателей апоптоза и некроза CD3–лимфоцитов с одновременным возрастанием в крови подопытных животных концентраций IL–1 $\beta$  (на 56,4%); IL–6 (в 5,6 раза); IL–4 (на 60,2%); IL–10 (в 3,7 раза); TNF $\alpha$  (в 6,8 раза) и снижением содержания IL–2 (на 22,7%). Применение метода активной детоксикации с использованием полифункционального углеродного энтеросорбента IV поколения «Карболайн» способствовало нормализации показателей цитокинового профиля и снижению в исследуемом органе количества как апоптически– так и некротически измененных Т–лимфоцитов.

**Ключевые слова:** хронический эндотоксикоз, цитокины, апоптоз и некроз CD3–лимфоцитов, кора головного мозга.

UDC 616. 831. 31–097–02:616–008. 6–085. 246. 2]–092. 9

**Cytokine-Dependent Immunoreactive Changes in Cortex of the Brain Hemispheres in Chronic Endotoxemia and Its Sorptive Correction**

**Soroka I. O., Bemkiv I. Ya., Soroka Yu. V., Lisnychuk N. Ye.**

**Abstract.** The brain is isolated from the immune system and belongs to the so-called “beyond-the-barrier” organs, where the development of the immune response is almost impossible in normal conditions. This is due to the absence of common lymphatic drainage of the brain, low level of expression of MHC (major histocompatibility complex) molecules on the brain cells, as well as the presence of the hematoencephalic barrier (HEB). Regardless of the total or nearly absence of dendritic cells, T- and B-lymphocytes in the CNS, various forms of immune responses can emerge and develop under certain conditions both in the central and peripheral nervous systems. One of the reasons for this is that activated T-lymphocytes are able to penetrate through the HEB to promote immune surveillance. Glial cells, which perform the role of CNS phagocyte system, being activated, are capable of synthesizing of different cytokines. With the increase in HEB permeability, which occurs as a result of the development of the pathological process in the cortex of the brain hemispheres, caused by the chronic endotoxemia or anti-inflammatory cytokines, synthesized by activated T-cells, specific antibodies can also penetrate into the CNS, resulting in antibody-dependent cytotoxicity that will lead to death of target cells. Formation and development of any type of immune response in the CNS is undesirable phenomenon and always leads to one or another pathological process. The main initiator and elongator of the immune response of such type is precisely the T-lymphocytes, therefore, it so important to eliminate them from the nerve tissue as quick as possible to reduce the autoimmune inflammatory process in the CNS organs. One of the ways for T – cells elimination from the foci of inflammation is activating the processes of their apoptosis and necrosis.

Consequently, the *purpose of the research* was to study the manifestation of apoptosis processes of CD3- lymphocytes in tissues of somatosensory area (fields of parietal area 1 and 2) of the cortex of the brain hemispheres and detection of changes in cytokine profile (TNF $\alpha$ , IL–1 $\beta$ , IL–2, IL–4, IL–6, IL–10 concentration) in chronic endotoxemia and during its correction by the “Carboline” carbon-base enterosorbent of the IV generation.

The study has been carried out on 50 male outbred white senior rats (190  $\pm$  5 g), maintained under standard animal care conditions. The experimental part of the research has been carried out in compliance with the requirements of international principals of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 18. 03. 1986) and “Scientific and Practical Guidelines for

the Maintaining of Laboratory Animals and Experiments on Them” (Kyiv, 2002). Chronic endotoxycosis was simulated by the daily intraperitoneal administration with 0.5 mL/kg of 30% CCl<sub>4</sub> oil solution per day during 5 days, and 0.2 mg/kg of E. Coli 0111:B<sub>4</sub> (Sigma) lipopolysaccharide (LPS) on the 6 day, and no manipulations were performed on the 7 day of the experiment. The weekly cycle was repeated during 30 days (V. B. Pysaryev, et al., 2008).

In chronic endotoxycosis intensification of apoptosis and necrosis of CD3-lymphocytes has been noted in homogenate of the brain cortex, as compared to almost healthy animals. At the same time significant violations of the cytokine profile have been detected in the blood of experimental animals, which were characterized by increasing concentrations of pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF $\alpha$ ) and anti-inflammatory cytokines (IL-4 and IL-10), as well as decrease in IL-2 content. Administration of “Carboline” enterosorbent as a corrective disintoxicational mediator promoted a decrease in active process of apoptosis and necrosis of CD3-lymphocytes in the brain cortex tissues. The applied method of active disintoxication, without direct impact onto the system of cytokines production, distantly facilitated the decrease in concentration of such biological mediators as IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10 and TNF $\alpha$ . Concentration of IL-2, being decreased in simulated chronic endotoxycosis, yet remained reliably lower than the index in the control group of animals even in administration of correcting agent, though was tending to increase.

**Keywords:** chronic endotoxycosis, cytokines, CD3- lymphocytes, apoptosis and necrosis, brain cortex.

*Рецензент – проф. Костенко В. О.*

*Стаття надійшла 09. 02. 2015 р.*