

УДК: 616.1-053.31-036:575.174.015.3  
DOI: 10.24061/2413-4260.VII.4.26.2017.6

РОЛЬ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ  
ENOS, MNSOD2, ADRB1 У РОЗВИТКУ  
КАРДІОВАСКУЛЯРНОЇ ПАТОЛОГІЇ  
У НОВОНАРОДЖЕНИХ

*М.О. Гончарь, А.Д. Бойченко,  
І.Ю. Кондратова<sup>1</sup>*

Харківський національний медичний університет,  
Регіональний перинатальний центр<sup>1</sup>  
(м. Харків. Україна)

**Резюме.** Вивчення поліморфізму генів проводиться з метою інформування лікарів практичної охорони здоров'я про генетичні дослідження, що можуть використовуватись у клінічній практиці, адже вивчені гени націлюватимуть на пошук раних проявів серцево-судинних розладів. Можливість визначення шляхів корекції визначеної кардіоваскулярної патології зумовлює необхідність та перспективність проведення подальших досліджень, починаючи з неонатального періоду. З метою вивчення частоти зустрічальності генотипів поліморфізму генів-кандидатів ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), мутації 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) та поліморфізму генів  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період обстежено 186 новонароджених, з них: 102 здорових доношених новонароджених, 25 новонароджених після перенесеної асфіксії, 46 передчасно народжених дітей та 13 новонароджених із затримкою внутрішньоутробного розвитку. Виявлено, що частота розподілу генотипів гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) C786T, мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T49C та  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період не відрізняється від здорових новонароджених. Генотип CT ( $p < 0,05$ ) поліморфізму гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) C786T можна вважати одним із предикторів розвитку серцево-судинних розладів у новонароджених, що потребує подальшого клініко-інструментального співставлення. Інформацію щодо поширеності поліморфізмів генів, асоційованих з розвитком кардіоваскулярних подій, необхідно враховувати при розробці комплексу індивідуальних профілактичних заходів.

**Ключові слова:** поліморфізм генів; ендотеліальна синтаза оксиду азоту; мітохондріальна супероксиддисмутаза; поліморфізм генів  $\beta$ 1-адренорецепторів; новонароджені.

## Вступ

На сьогоднішній день активно проводиться пошук генів, особливо визначення однонуклеотидних поліморфізмів, відповідальних за розвиток тієї чи іншої хвороби, а також розшифровка їх взаємодії з розвитком хвороби [1]. Доведено, що генетичні чинники у поєднанні з факторами навколишнього середовища, стилем життя людини можуть приводити до зміни генної експресії та клінічної реалізації успадкованої або набутої патології [2, 3, 4, 5, 6]. Таким чином, генетичний аналіз проводиться з метою визначення ризику розвитку соціально значущих захворювань. До даної категорії слід віднести захворювання серцево-судинної системи, що можуть у майбутньому призвести до розвитку або прогресування міокардіальної дисфункції, серцевої недостатності. Серед генів-кандидатів, що визначають розвиток серцево-судинних захворювань, значуще місце займають поліморфізм генів ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) та  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1). Доведено роль поліморфізму генів eNOS в регуляції судинного тону, розвитку легеневої гіпертензії [7, 8], що є актуальним при вивченні тривалого функціонування відкритої артеріальної протоки, особливо у передчасно народжених дітей, легеневої гіпертензії на тлі персистуючого фетального кровообігу. Приділяється увага значенню поліморфізму генів SOD<sub>2</sub> у розвитку легеневої гіпертензії та механізмі окислювального стресу [9], що є важливим для більш глибокого розуміння патогенезу розвитку міокардіальної дисфункції у новонароджених,

які перенесли асфіксію. Генетичний поліморфізм ADRB1 можна розглядати як головний регулятор серцевого ритму, що впливає на частоту серцевих скорочень [10], а варіанти генотипів мають різноманітну функціональну активність аденілатциклази та чутливість до стимуляції адреналіном [11], що є одним із головних механізмів гемодинамічної адаптації у постнатальному житті, як для здорових новонароджених, так і дітей груп перинатального ризику. Вивчення поліморфізму генів проводиться з метою інформування лікарів практичної охорони здоров'я про генетичні дослідження, що можуть використовуватись у клінічній практиці, адже вивчені гени націлюватимуть на пошук раних проявів серцево-судинних розладів. Можливість визначення шляхів корекції визначеної кардіоваскулярної патології зумовлює необхідність та перспективність проведення подальших досліджень, починаючи з неонатального періоду.

## Мета дослідження

Вивчити частоту зустрічальності генотипів поліморфізму генів-кандидатів ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), мутації 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) та поліморфізму генів  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період.

## Матеріали і методи

До обстеження увійшло 186 новонароджених, з них: 102 здорових доношених новонароджених (І група – група контролю) з гестаційним віком 38-40 тижнів, середньою масою при народженні

3318,9±406,3 г, зростом 50,1±1,6 см, з оцінкою за шкалою Апгар на першій та п'ятій хвилині – 8-9 балів, у яких ранній неонатальний період проходив без ускладнень. Основні групи пацієнтів репрезентовані наступними категоріями: II група (n=25) – новонароджені після перенесеної асфіксії, III група (n=46) – передчасно народжені діти, IV група (n=13) – новонароджені із затримкою внутришньоутробного розвитку.

Матеріалом для молекулярно-генетичного аналізу були зразки дезоксирибонуклеїнової кислоти (геномної ДНК), виділеної з буккального зіскрібка. Для дослідження обрано точка мутації ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) в позиції 786 (C>T) і мутації 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) в позиції 58 (T>C), поліморфізм гену β1-адренорецепторів (ADRB1) в позиції 49 (Ser> Gly). Визначення поліморфізму генів проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). При виділенні використовували набір фірми «Літех» (Росія): «Комплект реагентів для експрес-виділення ДНК з буккального зіскрібка» для виділення ДНК з клітин буккального епітелію. Матері обстежуваних пацієнтів були проінформовані про клінічне дослідження та дали згоду на його проведення.

Статистична обробка отриманих даних проводилася з використанням програми «Microsoft Excel 2010 for Windows». Для визначення частот алельних варіантів генів застосовувався закон Харді-Вайнберга. Порівняння досліджуваних груп за кількісними ознаками здійснювалося за допомогою критеріїв Манна-Уїтні. Різниця показників вважалася достовірною при  $p < 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення

Виявлено, що у здорових доношених новонароджених частота генотипу CC eNOS гена (C786T) виявилася у 6,8% (n=7) дітей, CT генотипу – у 67,7% (n=68) ( $p < 0,05$ ) дітей та TT генотипу – у 25,5% (n=26) обстежених. Частота виявлення генотипів відповідає даним, отриманим у дорослій популяції серед здорових осіб [12, 13, 14]. За даними літератури, існують значні расові та етнічні відмінності в розподілі поліморфізму eNOS [6, 15, 16]. Частота алельних варіантів C і T гена NOS<sub>3</sub> (C786T) становила 0,41 та 0,59 відповідно, що дотримувалося рівноваги Харді-Вайнберга.

При вивченні поліморфізму (T58C) гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) встановлено наявність наступних генотипів: TT – 55,9% (n=57) ( $p < 0,05$ ), TC – 32,4% (n=33), CC – 11,7% (n=12) відповідно. За даними Ming Xu та співавтор. (2017) [17] при обстеженні 530 здорових осіб встановлено зустрічальність генотипів TT – 80,37%, TC – 18,68% та CC – 0,94%, що декілька відрізняється від наших даних за частотою генотипів TC та CC, але даний факт можна пояснити расовою приналежністю та кількістю пацієнтів, що увійшли до вибірки. Розподіл частоти алелів поліморфізму (T58C) гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) становив T – 0,72 ( $p < 0,05$ ) та C – 0,28, що відповідало рівноваги Харді-Вайнберга.

Розподіл генотипів поліморфізму гена β1-адренорецепторів (ADRB1) (Ser49Gly) представлено носіями генотипу AG (Ser49Gly) – 25,5% (n=26), AA (Ser49Ser) – 52,0% (n=53) ( $p < 0,05$ ) і GG (Gly49Gly) – 22,5% (n=23) у обстежених осіб. Робіт про вивчення поліморфізму (Ser49Gly) гену β1-адренорецепторів (ADRB1) у дитячій популяції ми не зустріли, тому орієнтувалися на дані, що є характерними для дорослого населення: генотип AG (Ser49Gly) – 30,7%, AA (Ser49Ser) – 67,3% та GG (Gly49Gly) – 2% ( $p < 0,05$ ) [11]. Достовірних відзнак між генотипами в дорослій та дитячій популяції не отримано. Розподіл алелів відповідав рівновазі Харді-Вайнберга. Частота зустрічальності алелів складала 0,65 і 0,35 для алелів A і G відповідно.

Достовірних відмінностей в розподілі генотипів серед дітей з груп перинатального ризику при порівнянні з групою контролю виявлено не було (табл. 1).

Таблиця 1

### Розподіл генотипів досліджуваних поліморфних варіантів генів у основних групах і групі контролю

Ген	Поліморфізм	Розподіл генотипів (%)				
		Генотип	Група контролю	Основні групи		
				I група (n=102)	III група (n=46)	IV група (n=13)
ендотеліальна синтаза оксиду азоту (eNOS)	C786T	CC	7 (6,8%)	3 (12%)	7 (15,2%)	1 (7,7%)
		CT	68 (67,7%)#	13 (52%)	26 (56,5%)#	10 (76,9%)#
		TT	26 (25,5%)	9 (36%)	13 (28,3%)	2 (15,4%)
мутація 1 мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2)	T58C	TT	57 (55,9%)#	22 (88%)#	32 (69,6%)#	12 (92,3%)#
		TC	33 (32,4%)	1 (4%)	8 (17,4%)	1 (7,7%)
		CC	12 (11,7%)	2 (8%)	6 (13%)	-
β1-адренорецепторів (ADRB1)	Ser49Gly	AA	53 (52,0%)#	16 (64%)#	16 (34,8%)	10 (76,9%)#
		AG	26 (25,5%)	2 (8%)	13 (28,3%)	-
		GG	23 (22,5%)	7 (28%)	17 (36,9%)	3 (23,1%)

# - вірогідність відмінностей між внутришньогруповими генотипами, ( $p < 0,05$ ).

Викликає клінічний інтерес наявність вірогідних відзнак серед частоти зустрічальності гомозигот по першому алелю – генотип ТТ поліморфізму мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C, генотип AA  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly та гетерозигот ендотеліальна синтаза оксиду азоту (eNOS) C786T – генотип СТ. Отримані дані дозволяють припустити, що генотип СТ гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) C786T має патогенетичне значення у розвитку серцево-судинних розладів у новонароджених, що потребує подальшого клініко-інструментального співставлення. В той же час, генотип ТТ гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C та генотип AA гена  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly можна вважати генотипами «дикого типу», тобто такого, що є найбільш широко представленим в даній популяції [18]. Отже, генотип СС гена мітохондріальної супероксиддисмутази (MnSOD2) T58C та генотип GG гена  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) Gly49Gly можна вважати одними з предикторів розвитку кардіоваскулярних подій у майбутньому.

За прогнозами провідних фахівців медицини, нова концепція медицини XXI століття – це система П4-Медицина (P4-Medicine): Предиктивна (передбачувальна), Попереджувальна (профілактична), партисипаторна (participatory) – пацієнт учасник процесу, його інформують, навчають, йому допомагають у виборі, про нього піклуються і Персоналізована (індивідуальна). Системна медицина сприятиме забезпеченню фундаментального розуміння механізмів хвороби і нових підходів до діагностики та терапії. Таким чином, П4-медицина є активним напрямком, що фокусується на пацієнті, прагне до оптимізації стану здоров'я і збирає індивідуальні дані кожної людини [19]. Вивчення поліморфізму генів-канди-

датів розвитку тих чи інших соціально значимих захворювань – це один із перспективних та сучасних напрямів клінічної генетики та практичної кардіології, що може сприятиме розвитку та удосконаленню профілактичних заходів з перших днів життя дитини, розробки лікувально-діагностичних заходів, спрямованих на мінімізацію виявлених ризиків.

### Висновки

1. Генотип СТ гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) C786T можна вважати одним із предикторів розвитку серцево-судинних розладів у новонароджених.

2. Частота розподілу генотипів гена ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) C786T, мітохондріальна супероксиддисмутаза (MnSOD2) T58C та  $\beta$ 1-адренорецепторів (ADRB1) Ser49Gly у новонароджених з груп перинатального ризику у неонатальний період не відрізняється від здорових новонароджених.

3. Отримані нами дані про поширеність поліморфізмів генів, асоційованих з розвитком кардіоваскулярних подій, необхідно враховувати при розробці комплексу індивідуальних профілактичних заходів.

### Перспективи подальших наукових досліджень

Вважаємо доцільним провести клініко-інструментальні співставлення стану серцево-судинної системи новонароджених, починаючи з неонатального періоду та в катамнезі 6-12 місяців, з варіантами поліморфізму генів-кандидатів: ендотеліальна синтаза оксиду азоту, мітохондріальна супероксиддисмутаза, поліморфізм гену  $\beta$ 1-адренорецепторів.

Конфлікт інтересів: автори не заявляли будь-якого конфлікту інтересів.

### Література

1. Медведев СП, Закиян СМ. Система CRISPR/CAS9 – инструмент для исследования наследственных сердечно-сосудистых заболеваний. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2015;19(4-2):113-117.
2. Paynter NP, Chasman DI, Buring JE, Shiffman D, Cook NR, Ridker PM. Cardiovascular disease risk prediction with and without knowledge of genetic variation at chromosome 9p21.3. *Ann Intern Med.* 2009;150(2):65-72.
3. Dzida G, Sobstyl J, Puźniak A, Prystupa A, Mosiewicz J. Impact of smoking status on particular genetic polymorphisms associations with cardiovascular diseases. *J Pre-Clin Clin Res.* 2012;6(1):31-34.
4. Terence Prendiville, Patrick Y. Jay, William T. Pu. Insights into the Genetic Structure of Congenital Heart Disease from Human and Murine Studies on Monogenic Disorders. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2014 [cited 2017 Sep 19];4(10):a013946. Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/4/10/a013946.full.pdf+html>.
5. Muka T, Koromani F, Portilla E, Louise O'Connor A, Bramer WM, Troup J, et al. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. *Int J Cardiol.* 2016;212:174-83.
6. Shankarishan P, Borah PK, Ahmed G, Mahanta J. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and the Risk of Hypertension in an Indian Population. *Biomed Res Int.* 2014;2014:793040. doi: 10.1155/2014/793040.
7. Gonchar MO, Konovalova NV, Muratov GR. Mechanisms of myocardial remodeling in adolescents with hypothalamic syndrome of the puberty and arterial hypertension. *Inter collegas journal.* 2016;3(1):13-18.
8. Hoehn T, Stiller B, McPhaden AR, Wadsworth RM. Nitric oxide synthases in infants and children with pulmonary hypertension and congenital heart disease. *Respir Res.* 2009;10(1):110. doi: 10.1186/1465-9921-10-110.
9. Wedgwood S, Lakshminrusimha S, Czech L, Schumacker PT, Steinhorn RH. Increased p22phox/Nox4 Expression Is Involved in Remodeling Through Hydrogen Peroxide Signaling in Experimental Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(14):1765-76. doi: 10.1089/ars.2012.4766.
10. Рудык ЮС. ХСН и генетический полиморфизм: роль  $\beta$ -адренорецепторов. *Серцева недостатність.* 2009;2:20-27.
11. Бабенко АЮ, Костарева АА, Гринева ЕН, Савицкая ДА, Солнцев ВН. Вклад распространенных однонуклеотидных полиморфизмов гена  $\beta$ 1-адренорецептора в изменения, происходящие в сердечно-сосудистой системе при тиреотоксикозе. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология.* 2014;10(2):22-31.
12. Сербенникова СВ, Витковский ЮА. Полиморфизм гена ендотеліальної NO-синтази (C786T) у больных с периферическими витреохориоретинальными дистрофиями сетчатки в забайкальском крае. *Забайкальский медицинский вестник.* 2012;1:17-21.
13. Majumdar V, Nagaraja D, Karthik N, Christopher R. Association of endothelial nitric oxide synthase gene

polymorphisms with early-onset ischemic stroke in South Indians. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17(1):45-53.

14. Букач ОП, Гуца СГ, Ярошенко НО, Бахолдіна ОІ, Олешко ОЯ, Калініченко МВ. Асоціація T-786C поліморфізму гена ендотеліальної оксиду азоту синтази із ревматоїдним артритом у поєднанні з ожирінням, цукровим діабетом типу 2 та артеріальною гіпертензією. *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень.* 2017;5(1):720-7.

15. Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics.* 2001;11(8):719-25.

16. Serrano NC, Díaz LA, Casas JP, Hingorani AD, Moreno de Lucca D, Páez MC. Frequency of eNOS polymorphisms in the Colombian general population. *BMC Genet.* 2010;11:54. doi:10.1186/1471-2156-11-54.

17. Min Xu, Lei Han, Chao Yuan, Yong Mei, Hengdong Zhang, Shi Chen, et al. Role for functional SOD2 polymorphism in pulmonary arterial hypertension in a Chinese population. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14(3):E266. doi:10.3390/ijerph14030266.

18. Арефьев ВА, Лисовенко ЛА. *Англо-русский толковый словарь генетических терминов.* Москва: Изд-во ВНИРО; 1995. 407с.

19. Hood L. Interview with Leroy Hood. *Bioanalysis.* 2013;5(12):1475-8. doi:10.4155/bio.13.119.

#### РОЛЬ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ eNOS, MnSOD2, ADRB1 В РАЗВИТИИ КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

*М.А. Гончарь, А.Д. Бойченко, І.Ю. Кондратова<sup>1</sup>*

Харьковский национальный медицинский  
университет,  
Региональный перинатальный центр<sup>1</sup>  
(г. Харьков, Украина)

**Резюме.** Изучение полиморфизма генов проводится с целью информирования врачей практического здравоохранения о генетических исследованиях, которые могут использоваться в клинической практике, а изученные гены должны нацеливать на поиск ранних проявлений сердечно-сосудистых расстройств. Возможность определения путей коррекции выявленной кардиоваскулярной патологии вызывает необходимость и перспективность проведения дальнейших исследований, начиная с неонатального периода. С целью изучения частоты встречаемости генотипов полиморфизма генов-кандидатов эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), мутации 1 митохондриальной супероксиддисмутазы (MnSOD2) и полиморфизм генов  $\beta$ 1-адренорецепторов (ADRB1) у новорожденных из групп перинатального риска в неонатальный период обследовано 186 новорожденных, из них: 102 здоровых доношенных новорожденных, 25 новорожденных после перенесенной асфиксии, 46 недоношенных детей и 13 новорожденных с задержкой внутриутробного развития. Выявлено, что частота распределения генотипов гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) C786T, митохондриальной супероксиддисмутазы (MnSOD2) T49C и  $\beta$ 1-адренорецепторов (ADRB1) Ser49Gly у новорожденных из групп перинатального риска в неонатальный период не отличается от здоровых новорожденных. Генотип СТ ( $p < 0,05$ ) полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) C786T можно считать одним из предикторов развития сердечно-сосудистых расстройств у новорожденных, что требует дальнейшего клинико-инструментального сопоставления. Информацию о распространенности полиморфизмов генов, ассоциированных с развитием кардиоваскулярных событий, необходимо учитывать при разработке комплекса индивидуальных профилактических мероприятий.

**Ключевые слова:** полиморфизм генов; эндотелиальная синтаза оксида азота; митохондриальная супероксиддисмутазы; полиморфизм генов  $\beta$ 1-адренорецепторов; новорожденные.

© «Неонатология, хирургия та перинатальна медицина», 2017  
© М.О. Гончарь, А.Д. Бойченко, І.Ю. Кондратова, 2017

#### THE ROLE OF VARIABILITY OF CANDIDATE GENES eNOS, MnSOD2, ADRB1 IN THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR PATHOLOGY IN NEWBORN

*M.O. Gonchar, A.D. Boichenko, I.Yu. Kondratova<sup>1</sup>*

Kharkiv National Medical University, Regional  
Perinatal Center<sup>1</sup>  
(Kharkiv, Ukraine)

**Summary.** The study of gene polymorphism has been carried out to inform health care practitioners on genetic studies that can be used in clinical practice, and the genes under investigations aim at finding early manifestations of cardiovascular disorders. The possibility of determining the ways of correction of the detected cardiovascular pathology necessitates the prospect of further research starting from the neonatal period. To study the frequency of occurrence of genotypes of endothelial nitric oxide (eNOS) gene candidates polymorphism, mitochondrial superoxide dismutase (MnSOD2) 1 mutation and  $\beta$ 1-adrenoreceptor (ADRB1) gene polymorphism in neonatal infants from perinatal risk groups the study involved examination of 186 newborns: 102 healthy full-term newborns, 25 newborns after asphyxia, 46 premature newborns and 13 newborns with intrauterine growth retardation. The study showed that the frequency of distribution of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) C786T genotypes, mitochondrial superoxide dismutase (MnSOD2) T49C and  $\beta$ 1-adrenergic receptor (ADRB1) Ser49Gly in newborns from perinatal risk groups in the neonatal period did not differ from healthy neonates. The CT genotype ( $p < 0.05$ ) of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphism C786T can be considered one of the predictors of cardiovascular development in newborns, which requires further clinical and instrumental comparison. Information on the prevalence of polymorphisms of genes associated with the development of cardiovascular events should be considered when developing a set of individual preventive measures.

**Key words:** gene polymorphism; endothelial nitric oxide synthase; mitochondrial superoxide dismutase; polymorphism of  $\beta$ 1-adrenergic receptor genes; newborns.

© «Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine», 2017  
© M.O. Gonchar, A.D. Boichenko, I.Yu. Kondratova, 2017

Надійшло до редакції 10.10.2017  
Підписано до друку 03.12.2017