

Фітоінжиніринг як сучасний напрям створення анаболічних засобів нової генерації

У.В.Карпюк, В.С.Кисличенко, Г.В.Зайченко, В.І.Гноєвий, І.В.Гноєвий

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, Національний фармацевтичний університет,
Харківська державна зооветеринарна академія
Київ, Харків, с.м.т. Данилівка, Харківська обл., Україна

Отримано густий екстракт з трави сої щетинистої, зібраної у фазу цвітіння. Визначено органолептичні і фізико-хімічні показники отриманого екстракту. Вивчено якісний склад та кількісний вміст наступних біологічно активних сполук густого екстракту з трави сої: флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, суми окислювальних фенолів, полісахаридів, вільних та зв'язаних амінокислот. Експериментально встановлено, що густий екстракт проявляє виразні анаболічні властивості у щурів та телят чоловічої статі.

Ключові слова: трава сої, густий екстракт, анаболічна дія.

ВСТУП

Соя культурна (соя щетиниста) (*Glycine max* (L.) Merr або *Glycine hispida* (Moench.) Max.) відноситься до роду *Glycine* L., трибу Phaseoleae L., підродини Faboideae, родини Fabaceae Leguminosae Juss. [15].

Соя вважається цінним джерелом біологічно активних сполук, що обумовлюють її фармакологічну дію: сполуки фенольної природи, білки, жири, вітаміни. Завдяки вмісту цих біологічно активних речовин соя виявляє естрагенні властивості, антиоксидантну дію, антигіпоксичну, протипухлинну та анаболічну активність [18].

Останнім часом посилюється тенденція збільшення об'ємів переробки сої в харчових цілях. Це пов'язано з існуючою проблемою дефіциту білка та зниженням якості харчування населення. Розширення об'ємів промислової переробки сої та використання соєвих білкових продуктів для харчових потреб є од-

ним з ефективних шляхів зниження та ліквідації існуючого білкового дефіциту та покращення якості харчування населення [2, 11].

Крім того в сучасних умовах розвитку суспільства розширився спектр використання сої не тільки в харчовій промисловості, медичній і фармацевтичній галузі, а особливо в кормовиробництві. Зелена маса сої застосовується як для безпосередньої годівлі худоби, так і для заготівлі силосу. Крім того в якості корму для худоби використовуються наступні види білкових продуктів, отримані з насіння сої: шрот насіння, жирне соєве борошно, знежирена крупа. Застосування силосу із сої як компонента кормів призводить до збільшення надоїв молока та його жирності, крім того сприяє підвищенню репродуктивності корів [1, 3].

У медичній та фармацевтичній галузі частіше використовують насіння сої щетинистої. Крім того для силосування на корм худобі сою заготовляють у фазі повної зрілості. Але насіння сої містить окрім поживних речовин ще й такі, як фітинова кислота, інгібітори протеолітичних ферментів, рафіноза та стахіоза, що мають антипоживні властивості та впливають як на організм людини, так і тварини [17].

Альтернативною сировиною насінню сої є трава сої щетинистої у фазі цвітіння, яка не поступається насінню сої за складом біологічно активних речовин та не містить антипоживних речовин.

Метою дослідження було отримати та фітохімічно вивчити субстанцію — густий екстракт — з трави сої щетинистої, зібраної у фазу цвітіння, та вивчити її анаболічну активність.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Густий екстракт з трави сої (ГЕТС) отримували екстракцією водою. Отриманий екстракт упарювали на ротаційному випарнику до гус-

тої консистенції із вмістом сухого залишку не менше 70%. Екстрагент, температура та термін екстракції були підібрані експериментальним шляхом, виходячи з кількості одержаних екстрактивних речовин, вартості та екологічної безпечності екстрагента, які є оптимальними для даного виду сировини. Спосіб одержання ГЕТС захищений патентом України на корисну модель [10].

З метою застосування одержаного ГЕТС як біологічно активної субстанції для розробки нових лікарських препаратів та ветеринарних засобів, а також створення аналітичної нормативної документації були проведені експериментальні дослідження субстанції за основними показниками її якості, визначення якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних сполук ГЕТС.

Такі органолептичні та фізико-хімічні показники, як опис, розчинність, сухий залишок, втрата в масі при висушуванні та вміст важких металів в отриманому екстракті, були визначені за загально відомими методиками згідно з Державною Фармакопеєю України [5].

Для вивчення якісного складу біологічно активних сполук отриманого екстракту були використані загальновідомі якісні реакції, хроматографія на папері та в тонкому шарі сорбенту в присутності достовірних зразків [8, 9, 13].

Кількісне визначення біологічно активних сполук проводили спектрофотометричними, титриметричними та гравіметричними методами. Елементний аналіз мікро- та макроелементів ГЕТС проводили методом атомно-емісійної спектроскопії. Кількісний вміст амінокислот ГЕТС вивчали за допомогою амінокислотного аналізатора Т339М Mikrotechna-Praha [4, 5, 8, 9].

З метою вивчення специфічної фармакологічної активності одержаної субстанції сої щетинистої вивчали її анаболічну дію на моделі примусового плавання з навантаженням на ставево незрілих щурах [6, 7, 14].

В якості інтегральних критеріїв анаболічної дії було обрано: приріст загальної маси тіла та литкового м'яза дослідних тварин по відношенню до інтактного контролю, вміст загального білка в литковому м'язі, вміст сечовини в сироватці крові та сечі.

Досліди проводились на білих нелінійних щурах обох статей масою 60 ± 5 г. Тварини були розподілені на три групи (по 8 тварин у кожній) та протягом всього досліду (28 днів) утримувалися в умовах віварію на традиційному водно-харчовому раціоні. Групи характеризували наступним чином: 1 — інтактний кон-

троль; 2 — тварини, що отримували біологічно активну субстанцію за заявленим способом у дозі 100 мг/кг; 3 — тварини, що одержували препарат порівняння, а саме калію оротат.

Після підтвердження анаболічної дії для густого екстракту з трави сої у щурів наступним етапом нашої роботи було вивчення його анаболічного впливу на бичків.

Вивчення анаболічної дії ГЕТС виконували на телятах чоловічої статі (бичках) чорно-рябої породи молочного періоду масою 31-35 кг. До експерименту включали тварин одного віку (8 доба після народження), з одного розплідника, з однієї партії, які утримувались в однакових умовах телятника ДП ДГ «Гонтарівка» згідно із санітарними нормами на стандартному раціоні.

Розподіл тварин по групах проводили методом випадкової вибірки на три групи по 10 тварин у кожній: 1 група — здорові тварини (група інтактного контролю), які отримували необхідну кількість молока згідно із графіком харчування; 2 група — тварини, які разом з молоком отримували калію оротат (препарат порівняння) у дозі 1 г/кг/добу протягом 21 дня; 3 група — тварини, які отримували разом з молоком густий екстракт сої в дозі 3 г/кг/добу протягом 21 дня.

Досліджувані засоби розчиняли в молоці та вводили перорально в ранковий прийом їжі.

Тварин кожної групи зважували до початку експерименту, щотижнево та наприкінці дослідження. На 22 день введення калію оротату та густого екстракту сої розраховували показники загального та середньодобового приросту маси тіла [7].

Експериментальна оцінка анаболічних процесів проводилася за допомогою показників, які визначали азотистий баланс. При позитивному азотистому балансі переважають анаболічні процеси, при негативному — катаболічні. Про посилення анаболічних процесів свідчили такі індикаторні показники, як приріст маси тіла, внутрішніх органів, збільшення вмісту загального білка в сироватці крові, тканинах-мішенях (печінка, м'язи). Головним кінцевим продуктом азотистого обміну ссавців є сечовина. При позитивному азотистому балансі екскреція сечовини зменшується [16]. При проведенні фармакологічних досліджень анаболічну дію оцінювали за зазначеними показниками.

Експериментальні дані були статистично оброблені методом варіаційної статистики (вираховували середнє арифметичне та його стандартну помилку). Для отримання статистичних висновків застосовували критерій Ст'юдента-Фішера при рівні ймовірності $p < 0,05$.

ТАБЛИЦЯ 1

Якісний аналіз біологічно активних речовин густого екстракту сої щетинистої

Група біологічно активних речовин	Методи дослідження	Спостереження	Отримані результати
Флавоноїди	Ціанідинова реакція за Бриантом	Органічний шар має менш інтенсивне забарвлення, ніж водневий	+
	10% розчин заліза хлориду	Буро-зелене забарвлення	+
	10% розчин лугу	Посилення забарвлення	+
	2% розчин хлориду алюмінію	Жовте забарвлення	+
	Паперова хроматографія, н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2), УФ-світло	Жовта та темно-коричнева флуоресценція	рутин, кверцитин, кемпферол
Ізофлавоноїди	Тонкошарова хроматографія (попередній гідроліз), хлороформ – метанол (80:20), УФ-світло	Біло-блакитна та темна флуоресценція	геністеїн, формонетин, даїдзеїн
Гідроксикоричні кислоти	Паперова хроматографія, 2% оцтова кислота, УФ-світло	Блакитна та фіолетова флуоресценція	хлорогенова кислота, неохлорогенова кислота, ферулова кислота
Кумарини	10% спиртовий розчин лугу → 10% розчин хлористоводневої кислоти	Жовте забарвлення → білий аморфний осад	+
	10% розчин лугу та діазотована сульфанілова кислота	Червоне забарвлення	+
Сапоніни	Розчин баритової води	Осад	+
	10% розчин свинцю ацетату	Осад	+
	Розчин ваніліну і концентрована сірчана кислота (тс)	Жовте забарвлення	+
	Хлороформ і концентрована сірчана кислота	Жовто-гаряче забарвлення хлороформного шару	+
	10 % розчин міді сульфату і концентрована сірчана кислота (тс)	Синьо-зелене забарвлення	+
	Визначення хімічної природи	У пробірці з лугом стовпчик піни більше	+
Полісахариди	96% спирт	Білий аморфний осад	+
Вільні та зв'язані цукри	Паперова хроматографія, розчин анілінфталату	Рожеві та коричневі плями	глюкоза, галактоза
Вільні та зв'язані амінокислоти	Паперова хроматографія, н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2), 0,2% розчин нінгідрину	Рожеві та фіолетові плями	лізин, гістидин, серін, пролін, аланін, метіонін, лейцин, фенілаланін
Дубильні речовини	1% розчин желатину	Осад	+
	1% розчин хініну гідрохлориду	Аморфний осад	+
	Залізоамонієві галуни	Чорно-зелене забарвлення	+
	Натрію нітрит і 0,1% н-хлористоводнева кислота	Червоне забарвлення	+

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Екстракт являє собою в'язку мазеподібну масу коричневого кольору з приємним запахом, гіркувату на присмак, добре розчинну у воді, нагріту до температури 80-90°C, погано розчинну в 96% спирті етиловому, нерозчинну в органічних розчинниках. Сухий залишок склав 77,54%, а втрата в масі при висушуванні – 22,45%, що відповідає вимогам, вказаним у відповідній монографії. Отриманий екстракт витримував випробування на важкі ме-

тали. Вміст важких металів не перевищував 0,01% (100 ppm) [5]. Зберігали густий екстракт у щільно закупорених контейнерах з помаранчевого скла у захищеному від світла місці.

Результати вивчення якісного складу біологічно активних сполук ГЕТС наведені в табл. 1.

Результати вивчення кількісного вмісту біологічно активних речовин наведені в табл. 2.

Результати дослідження фармакологічної активності субстанції ГЕТС на щурах наведені у табл. 3.

Отримані результати свідчать, що 28-денне застосування отриманого за заявленим спо-

ТАБЛИЦЯ 2

Кількісний вміст біологічно активних речовин густого екстракту сої щетинистої

Група біологічно активних речовин	Методи дослідження	Вміст	
Флавоноїди	Спектрофотометричний метод, довжина хвилі 415 нм, у перерахунку на рутин	4,32%	
Ізофлавоноїди	Спектрофотометричний метод, довжина хвилі 260 нм, у перерахунку на ононін	2,51%	
Гидроксикоричні кислоти	Спектрофотометричний метод, довжина хвилі 327 нм, у перерахунку на хлорогенову кислоту	3,18%	
Окислювальні феноли	Перманганатометричний метод	6,6%	
Полісахариди	Гравіметричний метод	8,5%	
Мікро- та макроелементи	Метод атомно-емісійної спектроскопії	Na	750 мг/100 г
		Ca	2130 мг/100 г
		Si	1600 мг/100 г
		Mg	980 мг/100 г
		K	7250 мг/100 г
Вільні амінокислоти	Метод газоріднинної хроматографії	20,42%*	
Зв'язані амінокислоти		79,58%*	

Примітка: * – вміст % від загальної кількості амінокислот.

собом екстракту сої на моделі примусового плавання з вагою в дозі 100 мг/кг викликає анаболічний ефект, який виявляється в достовірному збільшенні маси тіла, литкового м'яза і рівня білка в тканинах м'яза. Під впливом отриманої субстанції відмічається зниження вмісту сечовини в сироватці крові та сечі по відношенню до контролю та препаратів порівняння, що непрямо свідчить про стимуляцію білковосинтетичних процесів в організмі та підтверджує анаболічну активність. За анаболічною дією новий засіб перевищує препарат порівняння – калію оротат.

Результати вивчення анаболічної активності ГЕТС на телятах, а саме зміна маси тіла тварин контрольної та досліджуваних груп, наведені в табл. 4.

Отримані дані свідчать про те, що у тварин усіх дослідних груп спостерігалось підвищення маси тіла. Абсолютний приріст маси тіла бичків усіх груп спостереження був позитивний та складав від 24 до 27,6 кг. Після трьох тижнів дослідження приріст маси тіла у тварин груп інтактного контролю, груп, що отримували калію оротат та густий екстракт сої, у порівнянні з масою їх тіла при народженні складав 72%, 77% та 84% відповідно.

Приріст маси тіла тварин, що отримували густий екстракт сої, перевищував на 15% відповідний показник тварин контрольної групи.

При визначенні вмісту білка в сироватці крові встановлено, що в усіх дослідних групах вміст білка знаходився у верхніх межах фізіологічної норми.

ТАБЛИЦЯ 3

Вплив 28-денного внутрішньошлункового введення біологічно активної субстанції з трави сої на показники анаболічної дії

Показник	Умови експерименту		
	Інтактний контроль	ГЕТС	Калію оротат
Маса тіла вихідна, г	61,4±0,6	62,5±1,4	61,3±0,6
Маса тіла наприкінці експерименту, г	91,0±2,5	131,0±3,0* **	103,4±1,7*
Приріст маси по відношенню до вихідної, %	28,75±2,24	68,5±2,1*	42,1±1,9*
Приріст маси по відношенню до контролю, г	48,2 (1,48)	109,6 (2,1)	69 (1,68)
Маса литкового м'яза, г	0,154±0,002	0,168±0,002*	0,154±0,002
Вміст білка в литковому м'язі, мг/100 мг тканини	18,1±0,4	24,6±1,1* **	19,7±0,4
Сечовина в сироватці крові, ммоль/л	4,6±0,3	3,45±0,2* **	4,45±0,3
Сечовина в сечі, ммоль/л	418,4±29,2	291,1±13,8* **	396±20,3

Примітки: * $p < 0,05$ – відхилення вірогідне по відношенню до інтактного контролю; ** $p < 0,05$ – відхилення вірогідне по відношенню до препарату порівняння (калію оротат).

ТАБЛИЦЯ 4

Динаміка маси тіла та приріст маси тіла телят, які отримували калію оротат та густий екстракт сої, n=10

Показники	Маса голови, кг		Абсолютний приріст маси тіла, %	Середньодобовий приріст маси тіла, %
	при народженні	у 30-денному віці		
Інтактний контроль	33,2±1,40	57,2±1,23	24,0±0,82 (72,3%)	0,800±0,09
Калію оротат	32,9±1,20	58,5±1,90	25,6±0,84 (77,8%)	0,853±0,09
ГЕТС	32,8±1,32	60,4±2,32	27,6±1,26* (84,1%)	0,920±0,01

Примітка: * – відхилення вірогідне по відношенню до групи інтактного контролю ($p < 0,05$).

Встановлено, що вміст сечовини у тварин групи інтактного контролю та тієї групи бичків, що отримувала калію оротат, практично однаковий. У тих тварин, які отримували густий екстракт сої, рівень сечовини знизився на 40,3% у порівнянні з тваринами групи інтактного контролю. Враховуючи підвищення маси тіла цих тварин, можна припустити, що це є проявом позитивного азотистого балансу та пояснюється реутилізацією азоту сечовини, необхідного для організму, що росте.

Таким чином, отримані дані свідчать про достатньо виражений вплив густого екстракту сої на метаболічні процеси, зокрема на білковий обмін. Це є підґрунтям для реалізації анаболічної дії екстракту, що вивчався, та відкриває перспективи для подальшого поглибленого його вивчення в цьому напрямку.

Матеріальною основою для передумови анаболічної дії служить багатий фітохімічний склад густого екстракту сої. Фенольні сполуки – ізофлавоноїди, флавоноїди, похідні коричної кислоти – є сполуками, що стимулюють анаболічні процеси.

Відомо, що синтез білка – це енергозалежний процес, тому наявність у густому екстракті сої значної кількості полісахаридів, які виконують роль енергетичних субстратів, забезпечує протікання білковосинтетичних процесів в організмі тварин, що зростають [12].

Полісахариди, які також в достатній кількості присутні в екстракті, є стимуляторами системи мононуклеарного фагоцитозу, яка в органах і тканинах представлена високодиференційованими макрофагами. Показано, що активація макрофагів полісахаридами призводить до посилення синтезу білка в печінці та інших тканинах, і це дає можливість обґрунтувати застосування таких препаратів для прискорення репаративних процесів в організмі та збільшення маси тіла.

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень нами була отриманий густий екстракт з трави сої

(ГЕТС). Визначено його органолептичні та фізико-хімічні показники. Встановлена наявність наступних груп біологічно активних сполук: флавоноїди, ізофлавоноїди, гідроксикоричні кислоти, кумарини, сапоніни, полісахариди, вільні та зв'язані цукри, вільні та зв'язані амінокислоти, дубильні речовини. Визначено кількісний вміст флавоноїдів, ізофлавоноїдів, гідроксикоричних кислот, суми окислювальних фенолів, полісахаридів, вільних та зв'язаних амінокислот, макро- та мікроелементів у ГЕТС. Отримані фітохімічні дані будуть використані нами при розробці проекту АНД на густий екстракт з трави сої щетинистої.

Експериментально встановлено, що ГЕТС на моделі ініційованого примусового плавання у щурів виявляє виражені анаболічні властивості.

Крім того отримані дані після вивчення анаболічного впливу ГЕТС на телят чоловічої статі свідчать про достатньо виражений вплив густого екстракту сої на анаболічні процеси дослідних тварин. Приріст маси тіла тварин, що отримували густий екстракт сої, перевищував на 15% відповідний показник тварин контрольної групи.

Отже, отриманий екстракт є перспективною субстанцією для створення нових лікарських препаратів та ветеринарних засобів анаболічного призначення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Біологічно активні речовини силосу сої як стимулятори жирномолочності корів / О.К.Тришин, В.І.Гноєвий, І.В.Гноєвий [та ін.] // Вісник аграрної науки. – 2005. – №11. – С. 40-44.
2. Высоцкий В.Г. Роль соевых белков в питании человека / В.Г.Высоцкий, И.С.Зинова // Вопросы питания. – 1995. – №5. – С. 20-28.
3. Гноєвий І.В. Годівля і відтворення поголів'я сільськогосподарських тварин в Україні: моногр. / І.В.Гноєвий. – Інститут тваринництва УААН. – Х.: Контур, 2006. – 400 с.
4. Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сы-

- рье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — 408 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
 6. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рек. / Под ред. А.В.Стефанова. — К., 2002. — 568 с.
 7. Експериментальне вивчення нових анаболічних засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К., 2001. — С. 139-152.
 8. Карпюк У.В. Соединения фенольной природы вегетативных органов сои щетинистой / У.В.Карпюк, В.С.Кисличенко // II Международная научная конференция молодых ученых-медиков: мат. конф. в 3-х т. — Курск: ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2008. — Т. III. — С. 294-295.
 9. Кисличенко В.С. Амінокислотний склад трави сої щетинистої / В.С.Кисличенко, У.В.Карпюк // Фітотерапія. Часопис. — 2008. — №2 — С. 62-64.
 10. Пат. України на корисну модель №33401. (51) МПК А61К 36/48. Спосіб одержання біологічно активної субстанції рослинного походження з анаболічною дією / У.В.Карпюк, Р.Ф.Єрьоменко, В.В.Гриценко [та ін.]. — №200800470; Заявл. 14.01.2008; Опубл. 25.06.2008; Бюл. №12.
 11. Раннеспелые сорта сои для производства пищевых белковых продуктов / О.Г.Давыденко, Д.В.Головенко, В.Е.Розенгвейц [и др.] // Масло-жировая промышленность. — 2004. — №1. — С. 20-21.
 12. Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под ред. В.А.Хазанова — Томск: Изд-во Том. ун-та, 2003. — 110 с.
 13. Фармакогнозія: лабораторний практикум: навч. посібник / В.С.Кисличенко, І.О.Журавель, О.І.Павлій [та ін.] / За ред. В.С.Кисличенко, І.О.Журавель. — Х.: НФаУ, 2009. — 160 с.
 14. Фармакологическая коррекция утомления / Ю.Г.Бобков, В.М.Виноградов, В.Ф.Катков [и др.]. — М.: Медицина, 1984 — 207 с.
 15. Яковлев Г.П. Бобовые земного шара / Г.П.Яковлев. — Л.: Наука, 1991. — 144 с.
 16. Crocker C.L. Rapid determination of urea nitrogen in serum or plasma without deproteinization / C.L.Crocker // Am. J. Med. Technol. — 1967. — Vol. 33. — №5. — P. 361-365.
 17. Liener I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods / I.E.Liener // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 1994. — Vol. 34. — №1. — P. 31-67.
 18. Soy in health and disease prevention / ed. Michihiro Sugano. — Boca Raton: CRC Press, 2005. — 328 p.
- У.В.Карпюк, В.С.Кисличенко, А.В.Зайченко, В.И.Гноевой, И.В.Гноевой. Фитоинжиниринг как современное направление создания анаболических средств новой генерации. Киев, Харьков, Украина.**
- Ключевые слова:** трава сои, густой экстракт, анаболическое действие.
- Получен густой экстракт травы сои щетинистой, собранной в фазу цветения. Определены органолептические и физико-химические показатели полученного экстракта. Изучен качественный состав и количественное содержание следующих групп биологически активных веществ густого экстракта травы сои: флавоноидов, изофлавоноидов, гидроксикоричных кислот, суммы окисленных фенолов, полисахаридов, свободных и связанных аминокислот. Экспериментально установлено, что густой экстракт проявляет выраженные анаболические свойства у крыс и телят мужского пола.*
- U. V. Karpiuk, V. S. Kislichenko, A. V. Zajchenko, V. I. Gnoevoi, I. V. Gnoevoi. Phytoengineering as a contemporary way of production of anabolic agents of new generation. Kharkiv, Kyiv, Ukraine.**
- Key words:** soybean grass, thick extract, anabolic activity.
- The thick extract of soybean herb gathering in the flowering stage has been obtained. Organoleptic and physicochemical characteristics of the thick extract have been determined. Qualitative composition and quantitative content have been studied for the next groups of biological active compounds: flavonoids, isoflavones, cinnamic acids, oxidized phenols, polysaccharides, free and allied aminoacids. It has been found experimentally that thick extract of soybean herb has pronounced anabolic effect at the rats and bull-calves.*

Надійшла до редакції 20.05.2010 р.