

Аналіз антигіпоксичного ефекту імунокоректора ронколейкіну методом кореляційних структур

Е.В.Супрун, Л.О.Громов, Н.О.Бут

Національний фармацевтичний університет, «Інститут фармакології та токсикології АМН України»,
КЗ «Дніпропетровська міська клінічна лікарня №4»
Харків, Київ, Україна

Проаналізовано вплив імунокоректора Ронколейкіну (0,01 мг/кг) на показники постгіпоксичних змін тканини мозку при експериментальному ішемічному інсульті (функціональну активність мітохондрій, стан вуглеводно-енергетичного обміну, активність системи оксиду азоту, вираженість вільнорадикального пошкодження, стан факторів регуляції нейроапоптозу) системним методом кореляційних структур. Доведено, що застосування Ронколейкіну викликає кардинальну перебудову як функціональних властивостей, так і архітекtonіки патологічної функціональної системи організму в умовах ішемічного інсульту та переорієнтування її на формування адекватних адаптаційних реакцій та відновлення порушеного гомеостазу організму тварин.

Ключові слова: ІЛ-2, Ронколейкін, експериментальний ішемічний інсульт.

ВСТУП

Гіпоксія є важливим етіологічним та/або патогенетичним фактором формування багатьох патологічних станів та хвороб. У сучасних умовах постійно зростає розповсюдженість ішемічних уражень серця (інфаркти міокарду – ІМ) та мозку (ішемічні інсульти – ІшІ), які потребують термінового спеціалізованого лікування в стаціонарі та подальшої реабілітації, призводять до довгострокової тимчасової непрацездатності з високим рівнем інвалідизації. При цьому в структурі загальної летальності у світі рівень смертності від ІМ та ІшІ займає перше та друге місця [1, 2].

Важливе місце у формуванні патофізіологічних змін, що запускаються гострою ішемією моз-

ку, займають різноманітні ланки патогенетичного постгіпоксичного каскаду, пов'язані між собою та детерміновані в часі. В осередку гіпоксії/ішемії активуються клітини ендотелію, лейкоцити, макрофаги, які продукують цитокини, у першу чергу інтерлейкіни (ІЛ). Формується «цитокінова мережа» – саморегулююча система, яка визначає ступінь вираженості запальної реакції, проліферацію та апоптоз клітин, умови для негайної або відстроченої загибелі клітин навколо зони первинної ішемії/гіпоксії і обсяг постгіпоксичних ускладнень [3, 4].

Інтерлейкін-2 (ІЛ-2) при ішемії/гіпоксії бере участь у формуванні швидкої імунної відповіді організму (індукує проліферацію В-лімфоцитів, активує цитотоксичні Т-лімфоцити, стимулює природні кілери та інше) та «цитокінового каскаду» шляхом стимулювання синтезу і секреції ряду інших цитокінів – ІЛ-4, ІЛ-6, гамма-інтерферону, колонійстимулюючих факторів (CSFs), факторів росту пухлин (THFs) [5, 6]. У клінічній практиці рекомбінантний ІЛ-2 (Ронколейкін) використовується для корекції вторинної імунної недостатності – у комплексній терапії сепсису різної етіології та інших гнійно-запальних захворювань, тяжких бактеріальних інфекцій та онкологічних процесів [7, 8].

Метою дослідження було вивчення ефективності використання імунокоректора Ронколейкіну в якості патогенетичного антигіпоксанту при постгіпоксичних станах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах масою 180-200 г. Ішемічний інсульт викликали незворотною двосторонньою оклюзією загальних сонних артерій – під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) за допомогою хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, підводили під них шовкові ліга-

тури і перев'язували. Тварини були розподілені на три групи по 10 щурів. 1 група — удавано оперовані тварини (УО); 2 група — тварини з ІшІ (контрольна група); 3 група — тварини з ІшІ, яким вводили Ронколейкін у дозі 0,01 мг/кг внутрішньом'язово відразу після виходу тварин з наркозу і надалі 1 раз на добу протягом 18 днів. Після закінчення гострого періоду ішемії (4 дні) і фази відновлення (18 днів) тварин виводили з експерименту під етамінал-натрієвим наркозом шляхом декапітації. У гомогенаті мозку біохімічними методами оцінювали функціональну активність мітохондрій (за відкриттям мітохондріальної пори та змінами мембранного потенціалу заряду мітохондрій); вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ) та показники лактат-ацидозу (лактат, піруват, малат); активність системи оксиду азоту (НО-синтаза, вміст нітратів і L-аргініну); вираженість вільнорадикального пошкодження (стан переокисного окислення ліпідів — за вмістом ДК, ТК і МДА; маркери окислювальної модифікації білка — альдегідфенілгідрозони (АФГ) та карбоксилфенілгідрозони (КФГ); антиоксидантний захист — за активністю СОД, каталази, глутатіонпероксидази). У серії морфологічних досліджень готували серійні фронтальні п'ятимікронні гістологічні зрізи в області СА1 зони гіпокампу та визначали стан факторів регуляції нейроапоптозу — щільність і площу нейронів, гліальних клітин, апоптотичних та деструктивно змінених нейронів та концентрацію в них РНК, клітинний склад в області IV-V шлів кори; методом непрямой імунофлуоресценції виявляли експресію c-fos та Bcl-2 білка. Також вивчали показники психофізіологічного стану щурів: неврологічний дефіцит (за шкалою stroke-index С.Р.МсGrow), показники орієнтовно-дослідних інстинктів в умовах «відкритого поля» та вплив препаратів на ВНД на моделі однократного навчання — умовного рефлексу пасивного уникання (УРПУ) без застосування анестезуючого фактора [9-11]. Отримані дані були статистично проаналізовані за використанням критерію Ст'юдента (t). Вірогідними вважали відмінності з рівнем значення більш ніж 95% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати дослідження дозволяють проаналізувати вплив Ронколейкіну на розвиток постгіпоксичних патофізіологічних змін у тканинах мозку щурів з експериментальним ІшІ шляхом вивчення динаміки окремих

вказаних показників гомеостазу. Однак у живому організмі між різними параметрами гомеостазу існують численні взаємозв'язки, тому поряд з аналітичним дослідженням за окремими параметрами був проведений системний аналіз ефективності досліджуваних препаратів за допомогою методу кореляційних структур (А.М.Зосимов, 1993).

Для цього системно проаналізовано достовірно значимі кореляційні зв'язки ($p < 0,05$) між основними параметрами, які вивчались у дослідженні. При цьому формувалася кореляційна матриця із зображенням існуючих зв'язків у вигляді графа, вузлами якого є ознаки, а ребрами — достовірні зв'язки між ними, будувалися кореляційні структури досліджуваних показників. Також у досліджуваній системі параметрів виділено їх частину в окрему внутрішню підсистему, яка включала морфометричні характеристики тканин мозку. Зв'язки між компонентами внутрішньої системи були означені як внутрішньосистемні, зв'язки цих компонентів з параметрами за рамками внутрішньої системи — як міжсистемні [12].

Між параметрами системи існують два види зв'язків: стійкі, які не змінюють своєї спрямованості і величини в часі, і хитливі, які легко розпадаються в процесі спостереження. Більшість кореляцій у біологічних системах не є детермінованими і виявляються за законами ймовірності. Звідси походить їх нестабільність, тому що вони залежать від умов, у яких функціонує система. Із цього випливає складність прогнозування поведінки системи в умовах постійної зміни зовнішніх і внутрішніх умов.

Враховуючи велику нестабільність міжсистемних зв'язків, кореляційні матриці системи кожного об'єкта дослідження сильно розрізняються, тому дати їм якісну характеристику складно. Виходячи з даних кореляційної структури визначали коефіцієнти лабілізації (КЛ): загальну кількість зв'язків ($КЛ_0$), внутрішньосистемну ($КЛ_В$) і міжсистемну ($КЛ_М$) інтеграцію, а також показник співвідношення внутрішньосистемних і міжсистемних зв'язків ($КЛ_В/КЛ_М$).

Коефіцієнт лабілізації (синхронізації) визначали за формулою:

$$КЛ = \frac{n}{N(N-1)} \cdot 100\%,$$

де n — сума всіх значимих зв'язків, утворених кожним параметром кореляційної структури; N — загальна кількість параметрів структури.

Показник кореляційного розходження (ПКР) визначали за формулою:

$$ПКР = \frac{H}{H + C} \cdot 100\%$$

де H — кількість незбіжних зв'язків у порівнюваних структурах; C — кількість співпадаючих зв'язків [12].

Проведене нами дослідження дозволило створити концепцію закономірностей функціонування біосистеми тканини мозку в умовах ішемічного ушкодження та дослідити зміни цієї системи при застосуванні Ронколейкіну.

В інтактних тварин між досліджуваними показниками виникають множинні зв'язки ($КЛ_3=12,43\%$). При цьому внутрішньосистемна інтеграція морфометричних характеристик мозку виявилася максимальною ($КЛ_В=100\%$), а міжсистемна їх взаємодія ($КЛ_М=13,6\%$) виявилася в 7,4 разу нижчою за внутрішньосистемну інтеграцію. Системоутворюючим елементом кореляційної структури (тим, що утворює найбільшу кількість зв'язків з іншими показниками) виявився вміст РНК нейронів. Отримані дані є нормативними і надалі будуть служити в якості еталону (норми).

В умовах ішемічного ушкодження важливим моментом функціонування біосистеми тканини мозку є зміна кількості зв'язків. Виявлено, що при погіршенні умов кровопостачання тканини мозку (при експериментальному ІшІ) зв'язки між підсистемами та окремими елементами стають більш множинними: сильні стресорні впливи організм зустрічає не як сукупність ізольованих підсистем, а як цілісну систему.

Однак при порівнянні ступеня внутрішньосистемної, міжсистемної інтеграції та їх співвідношення з нормативними даними встановлено, що у тварин з ішемічним інсультом на 4-ту добу відзначається значне (в 3 рази) зниження внутрішньосистемної інтеграції ($КЛ_В=33,3\%$; $p<0,001$). На 18-ту добу спостереження кількість внутрішньосистемних кореляцій збільшується в 2 рази ($КЛ_В=66,7\%$; $p<0,05$), однак у порівнянні з нормативним залишається зниженим ($p<0,001$). Що стосується міжсистемних кореляцій, то їх кількість не виявила істотних відмінностей з нормою ($p>0,05$).

Значення показника співвідношення внутрішньосистемних і міжсистемних зв'язків на 4-ту добу ІшІ виявилось в 2,8 разу нижчим у порівнянні з нормою. На 18-ту добу відзначено деяке відновлення його значення ($КЛВ/КЛМ=3,8$), однак у порівнянні з нормою він був в 2 рази нижче. Ці дані, згідно з концепцією А.М.Зосимова (1993), свідчать про значну функціональну напругу компенсаторних механізмів у тварин з ІшІ.

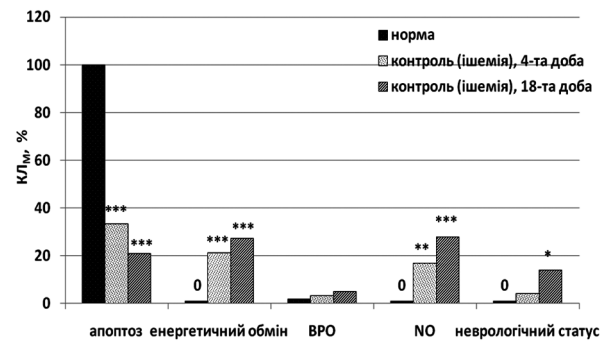


Рис. 1. Ступінь міжсистемної інтеграції морфометричних характеристик мозку з окремими підсистемами організму щурів з ішемічним інсультом.

Примітки: * — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при $p<0,05$; ** — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при $p<0,01$; *** — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при $p<0,001$.

При розгляді ступеня міжсистемної інтеграції морфометричних характеристик мозку з окремими підсистемами організму тварин і її зіставленні з нормативними даними встановлено (рис. 1), що для здорових тварин характерна абсолютна ($КЛ_М=100\%$) інтеграція морфометричних характеристик мозку з показниками апоптозу.

У хворих тварин на 4-ту добу спостереження виявлено значне зменшення (в 3 рази; $КЛМ=33,3\%$; $p<0,001$) таких кореляцій. На 18-ту добу спостереження відзначається збільшення «депресії» зв'язків ($КЛ_М=20,8\%$; $p<0,001$).

У здорових тварин виявлено повне роз'єднання ($КЛ_В=0$) між морфологічними показниками структур мозку і показниками енергетичного обміну. У хворих тварин як на 4-ту ($КЛ_М=21,2\%$; $p<0,001$), так і на 18-ту добу ($КЛ_М=27,3\%$) близько $\frac{1}{4}$ зв'язків припало на таку взаємодію. Подібна закономірність відзначена й у взаємодії морфологічних структур мозку з показниками вільно радикального окислення (BPO), NO_2 та неврологічним статусом.

Отже, у здорових тварин відзначається дуже тісний (максимальний) взаємозв'язок між морфологічними структурами мозку, з одного боку, а також між останніми і показниками апоптозу, з іншого, при відсутності зв'язку з іншими підсистемами організму тварин.

У тварин з ІшІ визначається ситуація з точністю до навпаки: має місце дисоціація внутрішньосистемних зв'язків та посилення міжсистемної інтеграції, що пов'язано з вираженою функціональною напругою гомеостатичних механізмів.

Поряд з відмінностями функціонування гомеостазу в розглянутих групах тварин виявлені значні розбіжності й у характері зв'язків між параметрами. При цьому відмінності кореляційних «портретів» тварин з ішемічним інсультом у порівнянні з нормою на 4-ту добу склали 95,3%, а на 18-ту добу — 93,3%. Ці результати свідчать про те, що розвиток ішемічного інсульту викликає не тільки зміни функціонування гомеостатичних механізмів організму тварин, а й повну перебудову їх системогенезу. Фактично на 95,3% виникає нова функціональна система. При цьому патогенетична детермінанта, яка виникла, проявляє характер стійкості в часовому відношенні.

Таким чином, ішемічний інсульт викликає повну і тривалу перебудову архітеконики функціональної системи організму тварин, що має характер патогенетичної детермінанти.

Аналіз кореляційних структур показників тварин з ішемічним інсультом, які отримували лікування Ронколейкіном, свідчить, що кореляційні структури основної групи менш інтегровані ($KL_3(4)=8,82\%$ і $KL_3(18)=7,05\%$) у порівнянні з нормою ($KL_3=12,43\%$) і контролем ($KL_3(4)=10,24\%$ і $KL_3(18)=10,13\%$).

Розгляд кількості внутрішньосистемних і міжсистемних кореляцій та їх співвідношення показав, що внутрішньосистемна інтеграція показників в основній групі на 4-ту добу була достовірно нижче як у порівнянні з нормою (у 7,5 рази; $p<0,001$), так і в порівнянні з контролем (у 2,5 рази; $p<0,01$). На 18-ту добу спостереження відзначено посилення депресії внутрішньосистемних зв'язків ($KL_B=6,7\%$), що виявилось нижче в 15 разів у порівнянні з нормою і в 10 разів порівняно з контролем ($p<0,001$). Подібна закономірність, яка проявилася, однак, у вигляді тенденції, відзначена і щодо міжсистемної інтеграції.

Вищевказані відмінності відбилися і на показнику співвідношення внутрішньосистемних і міжсистемних кореляцій. Його значення на 4-ту добу лікування в 3,7 рази нижче в порівнянні з нормою і в 1,3 рази менше в порівнянні з контролем. На 18-ту добу терапії виявлено зниження показника як у порівнянні з 4-ю добою (у 2 рази), так і по відношенню до норми (у 7,4 рази) і контролю (у 3,8 рази). Встановлено також зниження домінування внутрішньосистемних зв'язків над міжсистемними у тварин, яких лікували Ронколейкіном.

Аналіз особливостей міжсистемної інтеграції морфометричних характеристик мозку з окремими підсистемами організму тварин, які от-

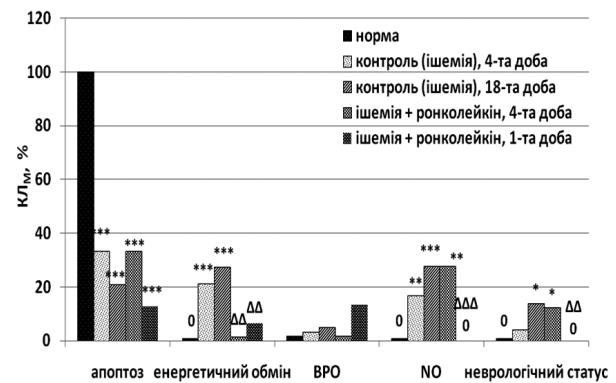


Рис. 2. Ступінь міжсистемної інтеграції морфометричних характеристик мозку з окремими підсистемами організму щурів з ішемічним інсультом, які отримували лікування Ронколейкіном.

Примітки: * — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при $p<0,05$; ** — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при $p<0,01$; *** — статистично вірогідні відмінності відносно інтактних тварин при ($p<0,001$); $\Delta\Delta$ — статистично вірогідні відмінності відносно тварин контрольної групи позначено знаками при $p<0,01$; $\Delta\Delta\Delta$ — статистично вірогідні відмінності відносно тварин контрольної групи позначено знаками при $p<0,001$.

римували Ронколейкін (рис. 2), свідчить, що при взаємодії морфометричних характеристик мозку із системою апоптозу відмінностей з контролем не відзначено, і проявляється прогресуючим у часі зниженням зазначених інтеграційних властивостей, у той час як для норми характерна максимальна ($KL_M=100\%$) інтеграція. Інтеграційні властивості морфометричних характеристик мозку з енергетичним обміном тварин, яких лікували Ронколейкіном, достовірно нижче, ніж у контролі ($p<0,01$), і не відрізнялися від норми ($p>0,05$).

Дані по ВРО достовірно не відрізнялися як від норми, так і від контролю ($p>0,05$). Що стосується ступеня інтеграції морфометричних характеристик мозку із системою NO, то на 4-ту добу лікування вона відповідала контролю і з високою вірогідністю ($p<0,001$) перевищувала таку в нормі. На 18-ту добу лікування вона повністю відповідала нормі ($KL_M=0$), у той час як в контрольній групі вона підвищилася до $KL_M=27,8\%$ ($p<0,001$). Подібна закономірність відзначена і щодо взаємодії морфометричних характеристик мозку з даними неврологічного статусу.

Отже, проведена Ронколейкіном терапія ішемічного інсульту викликала поліпшення інтегральних властивостей морфометричних характеристик мозку по відношенню до енергетичного обміну, системи оксиду азоту та неврологічного статусу.

Отриманий терапевтичний ефект Ронколейкіну щодо нормалізації міжсистемної інте-

рації клітин мозку доповнюють дані про якісні відмінності (ПКР) кореляційних структур контролю та основної групи. На 4-ту добу спостереження вони склали 95,3%, а на 18-ту добу збільшилися до 96,1%. Крім того, при порівнянні кореляційних «портретів» норми і основної групи вони відрізнялися на 92% на 4-ту добу і на 88,9% на 18-ту добу спостереження.

Отримані дані свідчать про те, що терапія Ронколейкіном викликала повну перебудову патогенетичної детермінанти. При цьому архітектоніка функціональної системи організму тварин, яка виникла, має компенсаторну спрямованість, оскільки на 18-ту добу терапії відзначено зменшення «портретних» відмінностей у порівнянні з нормою.

Виявлений характер кореляцій також повністю носить компенсаторний характер, так як нормалізація енергетичного обміну, що спостерігається на 18-ту добу лікування, поєднується з поліпшенням когнітивно-мнестичних функцій щурів (УРПУ) і зниженням активності системи оксиду азоту.

Аналіз результатів дослідження доводить, що застосування Ронколейкіну викликає істотну перебудову як функціональних властивостей, так і архітектоніки патогенетичної детермінанти, що виникла внаслідок ішемічного інсульту.

Зазначена перебудова носить компенсаторний характер, що дозволяє функціональній системі на 18-ту добу терапії значною мірою нормалізувати гомеостатичні функції організму тварин.

ВИСНОВКИ

Таким чином, проведений системний аналіз гомеостазу щурів з експериментальним ішемічним інсультом дозволяє зробити наступні висновки:

1. Гомеостатичне регулювання діяльності мозку у здорових щурів здійснюється шляхом тісної взаємодії окремих підсистем організму

2. Розвиток інсульту викликає формування нової функціональної патогенетичної системи в організмі тварин, архітектоніка якої при ішемічному інсульті відрізняється від такої у здорових тварин на 93,5%. Застосування Ронколейкіну викликає кардинальну перебудову як функціональних властивостей, так і архітектоніки патологічної функціональної системи організму і переорієнтування її на формування адекватних адаптаційних реакцій та відновлення порушеного гомеостазу організму тварин.

3. Узагальнений аналіз результатів дає всі підстави вважати, що Ронколейкін проявляє комплексний захисний ефект при постгіпоксичних ураженнях, що дозволяє розглядати його як перспективний засіб у комплексній терапії постішемічних станів, зокрема для ефективного захисту тканини мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова. — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
2. Rosamond W. Heart Disease and Stroke Statistics — 2008 Update. A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee / W.Rosamond // Circulation. — 2008. — Vol. 117. — P. 25-146.
3. Герасимова М.М. Иммунологические критерии в прогнозировании течения и исхода ишемического инсульта / М.М.Герасимова, Г.Н.Жданов // Неврол. журнал. — 2005. — Т.10, №1. — С. 19-21.
4. Increase cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke / C.Ferrarese, P.Mscarucci, C.Zoai [et al.]. // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 1999. — Vol. 19. — №9. — P. 1004-1009.
5. Гусева С.А. Клинико-иммунологические аспекты использования Нонколейкина (интерлейкина-2) в клинической практике / С.А.Гусева, К.В.Куришук. — К.: Логос, 2004. — 121 с.
6. Reduced IL-2 but elevated IL-4, IL-6, and IgE serum levels in patients with cerebral infarction during the acute stage / Н.М.Ким, Н.У.Шин, Н.У.Жеонг [et al.] // J. Mol. Neurosci. — 2000. — Vol. 14. — №3. — P. 191-196.
7. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии / В.К.Козлов. — К.: АННА-Т, 2007. — 296 с.
8. Павлов Р.В. Оценка эффективности использования рекомбинантного интерлейкина-2 у больных диссеминированной меланомой кожи и распространенным раком почки: Автореф. дис. ... на соискание к.мед.н. / Р.В.Павлов. — СПб., 2007. — 23 с.
9. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейротропных препаратов: Метод. Рек. / И.С.Чекман, Ю.И.Губский, И.Ф.Беленичев [и др.]. — К.: ГФЦ МЗ Украины, 2010. — 81 с.
10. Доклиническое изучение специфической активности фармакологических средств, предназначенных для лечения нарушений мозгового кровообращения: Метод. Рек. / А.И.Бекетов, И.Д.Салегина, И.В.Полевик [и др.]. — К.: ГФЦ МЗ Украины, 2002. — 31 с.
11. Мецлер Д. Биохимия: в 3 т. / Д.Мецлер: пер. с англ. — М.: Мир, 1980. — Т.2. Химические реакции в живой клетке. — 606 с.
12. Зосимов А.Н. Системный анализ в медицине / А.Н.Зосимов, В.П.Голик. — Х.: Торнадо, 2000. — 78 с.

Э.В.Супрун, Л.А.Громов, Н.А.Бут. Анализ антигипоксического эффекта иммунокорректора Ронколейкина методом корреляционных структур. Харьков, Киев, Украина.

Ключевые слова: IL-2, Ронколейкин, экспериментальный ишемический инсульт.

Изучено влияние иммунокорректора Ронколейкина (0,01 мг/кг) на показатели постгипоксических изменений ткани мозга при экспериментальном ишемическом инсульте (функциональную активность митохондрий, состояние углеводно-энергетического обмена, активность системы оксида азота, выраженность свободнорадикального повреждения, состояние факторов регуляции нейроаптоза) системным методом корреляционных структур. Доказано, что применение Ронколейкина вызывает кардинальную перестройку как функциональных свойств, так и архитектоники патологической функциональной системы организма в условиях ишемического инсульта и переориентирование ее на формирование адекватных адаптационных реакций, а также восстановление нарушенного гомеостаза организма животных.

E.V.Suprun, L.A.Gromov, N.A.But. Analysis of antihypoxic effect with immunocorrector Ronkoleukin in method of correlation structures. Kharkiv, Kyiv, Ukraine.

Key words: IL-2, Ronkoleukin, experimental ischemic insult.

Effect of immunocorrector Ronkoleukin (0,01 mg/kg) on the posthypoxic changes in brain tissue in experimental ischemic insult was studied (functional activity of mitochondria, the state of carbohydrate and energy metabolism, the activity of nitric oxide system, expression of the free-radical damage, the state of the factors that regulates neuroapoptosis) by system method using the correlation structure. It is proved that the application of Ronkoleukin leads to fundamental restructuring of functional properties and the architectonics of a pathological functional systems of the organism in a hemorrhagic stroke and redirecting it to the formation of adequate adaptive reactions and restore disturbed homeostasis in animals.

Надійшла до редакції 19.09.2012 р.