

© Дудар І.О., Лобода О.М., Король Л.В., Алексеєва В.В., 2012

УДК: 616.61:616.379-008.64-071:612.017

І. О. ДУДАР, О. М. ЛОБОДА, Л. В. КОРОЛЬ, В. В. АЛЕКСЕЄВА

**ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК: СТАН ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ
НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ХХН**

I.O. DUDAR, O.M. LOBODA, L.V. KOROL, V. V. ALEKSEEVA

***THE PROGRESSION OF CHRONIC KIDNEY DISEASE: STATE OF OF OXIDATIVE STRESS AT
DIFFERENT STAGES OF CHRONIC KIDNEY DISEASE***

ДУ “Інститут нефрології НАМН України”

Ключові слова: *хронічна хвороба нирок, оксидативний стрес, перекисне окиснення ліпідів, прогресування.*

Резюме. *Целью работы было оценить активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантного статуса (АОС) у больных хронической болезнью почек (ХБП) I-V ст. Было показано, что развитие ХБП сопровождается усилением ПОЛ на фоне снижения активности АОС.*

**Дудар Ірина Олексіївна
тел.: (0 44) 512 64 74**

При прогрессировании ХБП наблюдается достоверное повышение показателей активности ПОЛ – повышение уровня МДА сыворотки и эритроцитов. Активность АОС достоверно уменьшается с прогрессированием заболевания – уменьшение уровней SH-групп и показателей общей пероксидазной активности эритроцитов.

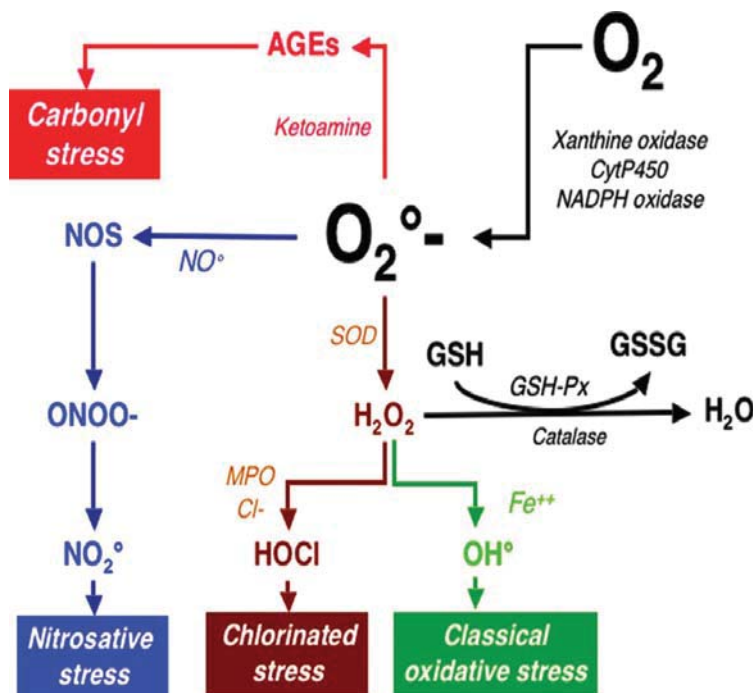
Summary. The aim of study was to evaluate the activity of lipid peroxidation and antioxidant status in patients with chronic kidney disease (CKD) I-V st. It was shown that the development of CKD is accompanied by increased lipid peroxidation in the background of decreased activity of the antioxidant status. With the progression of CKD observed a significant elevation in lipid peroxidation activity - raising the levels of serum MDA and MDA erythrocytes. The activity was significantly decreased antioxidant status with the progression of the disease - reducing levels of SH-groups and on the total peroxidase activity of erythrocytes.

Вступ. Останнім часом багато уваги приділяють вивченню зв'язку прогресування хронічної хвороби нирок (ХХН) та розвитку різноманітних ускладнень, зокрема серцево-судинних, з оксидативним стресом, що характеризується дисбалансом між про- та антиоксидантною системами [1,2]. Такі дослідження були проведені у пацієнтів на гемодіалізі [3,4] перитонеальному діалізі [5,6] та у пацієнтів на додіалізі стадіях ХХН [7].

Оксидативним стресом вважають порушення обміну речовин та енергії, накопичення активних пошкоджуючих агентів (вільних радикалів, прооксидантів та активних форм кисню), що ініціюють пошкодження клітин і призводять до розвитку різних патологічних станів. Його основу складає вільнорадикальне окислення жирних кислот, або так зване перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). В нормі (при низькій концентрації) активні форми кисню (супероксид аніон, перекис водню, гідроксильний радикал, гіпохлорит іон) беруть участь у багатьох фізіологічних процесах. Наприклад, активні форми кисню відомі як регулятори синтезу окису азоту, внутрішньоклітинних сигнальних каскадів,

зокрема цитокінів, факторів росту, NF- κ B, а також модуляції імунної відповіді, апоптозу, і мутагенезу [8,9]. Крім того, утворення активних форм кисню під час фагоцитозу є одним із ключових механізмів захисту від патогенних мікроорганізмів. Однак, коли активних форм кисню утворюється забагато, вони можуть вступати в реакцію з різними молекулами, зокрема з ліпідами, вуглеводами, білками і ДНК, змінюючи їхню структуру та функції. Результатом цього є пошкодження клітин, що призводить до патологічних процесів, зокрема розвитку атеросклерозу. Ці потенційно шкідливі реакції перебувають під контролем системи ферментативних і неферментативної антиоксидантів, які знешкоджують прооксидантні продукти і вільні радикали. Супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і каталази є основними ферментативними антиоксидантами. Глутатіон, аскорбінова кислота, альфа-токоферол (вітамін Е), змішані каротиноїди, біофлавоноїди є лише частиною неферментативної антиоксидантної системи (АОС).

Концептуально, можна уявити чотири різних види оксидативного стресу (рис. 1) [13].



Примітки: NADPH - нікотинамід-аденін динуклеотид фосфат, SOD - супероксиддисмутаза, NOS - синтаза оксиду азоту; CytP450 - цитохром P450, GSH - відновлений глутатіон, GSSG - окислений глутатіон, GSH-PX - глутатіонпероксидази.

Рис.1. Схематичне зображення різних видів оксидативного стресу та антиоксидантної системи при хронічному захворюванні нирок (адаптовано з Stenvinkel P et al., 2008).

Таким чином, існуючі дані свідчать про важливу роль оксидативного стресу у пацієнтів з ХНН, але багато питань потребують подальшого вивчення. На сьогодні відсутні дані щодо доцільності корекції процесів ПОЛ та необхідності призначення АО пацієнтам з ХНН.

МЕТА РОБОТИ: оцінити активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного статусу (АОС) у хворих на хронічну хворобу нирок (ХНН) I-V ст.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ: Обстежено 95 хворих на ХНН I-V ст. (20 хворих з ХНН I ст., 21 – з ХНН II ст., 19 з ХНН III ст., 20 – з ХНН IV ст., 15 – з ХНН V ст.), вивчено показники активності ПОЛ та АОС. ХНН виникла у 47 осіб на тлі цукрового діабету 2 типу, інші – 48 осіб – мали недіабетичне uszkodження нирок, зумовлене зокрема гіпертонічною хворобою, гломерулонефритом, хронічним піелонефритом. Середній вік обстежуваних хворих становив $58 \pm 9,5$ роки. Серед обстежуваних переважали чоловіки – 50 осіб (53%). У хворих досліджуваних груп не було достовірної різниці

в розподілі за статтю та кількістю хворих на цукровий діабет, а також за віком.

Результати порівнювалися з контрольними даними, отриманими при обстеженні репрезентативної групи з 30 осіб (група контролю), що в результаті проведених клінічних і додаткових досліджень були визнані практично здоровими.

Інтенсивність ПОЛ оцінювали шляхом спектрофотометричного визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові та мембранах еритроцитів за методом Н.Д Стальної [10] у нашій модифікації. В основі методу знаходяться реакція МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою, яка при $95\text{ }^\circ\text{C}$ та кислому значенні рН утворює забарвлений триметиновий комплекс. Стан АОС оцінювали за показниками загальної пероксидазної активності (ЗПА) еритроцитів та вмісту SH-груп в сироватці крові. Вміст SH-груп оцінювали за методом запропонованим Фоломеевим [11]. Загальну пероксидазну активність еритроцитів визначали за реакцію з індигокарміном [12].

Клініко-лабораторні дані хворих досліджуваних груп представлені у табл. 1.

Таблиця 1

Клініко-лабораторна характеристика хворих в залежності від стадії ХНН

Показник	Група хворих				
	I ст.	II ст.	III ст.	IV ст.	V ст.
Стать: чоловіки жінки	11 9	12 9	10 9	10 10	7 8
Вік, роки	$57 \pm 10,1$	$58 \pm 8,7$	$59 \pm 9,5$	$57 \pm 10,2$	$60 \pm 8,1$
САТ, мм рт. ст.	130 (130:140)	130 (130:145)	130 (130:140)	135 (130:145)	130 (130:145)
ДАТ мм рт. ст.	80 (80:90)	80 (80:90)	80 (80:90)	80 (80:95)	80 (80:90)
Протеїнурія, г/ добу	$1,53 \pm 0,78$	$1,44 \pm 0,81$	$1,58 \pm 0,75$	$1,49 \pm 0,80$	$1,47 \pm 0,83$
Гемоглобін, г/л	$119,2 \pm 5,4$	$109,6 \pm 7,4$	$102,1 \pm 5,6$	$96,4 \pm 5,1$	$90,1 \pm 4,9$
ШКФ, мл/хв/1,73 м2	$99,2 \pm 6,7$	$72,9 \pm 6,2$	$41,1 \pm 6,5$	$24,5 \pm 4,4$	$12,1 \pm 1,4$

Примітка: Дані представлені у вигляді $M \pm SD$ при нормальному розподілі або як медіана (25 перцентиль:75 перцентиль) при іншому.

Отримані дані досліджень були статистично оброблені, використані ряд параметричних і непараметричних статистичних методів. Застосовувались методи описової статистики: для вибірки визначали тип розподілення (нормальний чи інший) за допомогою тесту Колмогорова-Смирнова, середню арифметичну (M), стандартне відхилення (SD). При нор-

альному розподіленні достовірність різниці показників в дослідній та контрольній групах встановлювали за допомогою t-тесту для вибірок з незв'язаними варіантами. При порівнянні показників у понад 2 групах використовували однофакторний дисперсійний аналіз (One-way ANOVA). При відхиленні значень показників у дослідній та контрольній групах від нормально-

го типу розподілення достовірність різниці встановлювали за допомогою U-тесту за методом Манна-Уїтні; якщо порівнювалися показники більше ніж у 2 групах використовувався H-тест за методом Крускала-Уолліса. Встановлювали наявність чи відсутність зв'язку між досліджуваними показниками. Для цього проводили кореляційний аналіз і визначали коефіцієнт (r) кореляції Пірсона для показників, що відносяться до інтервальної або номінальної шкали, або ранговий коефіцієнт (r) кореляції за Спірменом, якщо хоча б один із двох показників відносився до порядкової шкали чи не був нормально розподілений. Достовірність кореляційного зв'язку визначали за показником достовірності коефіцієнту кореляції. Різниця вважалася достовірною при досягнутому рівні значимості $p < 0,05$.

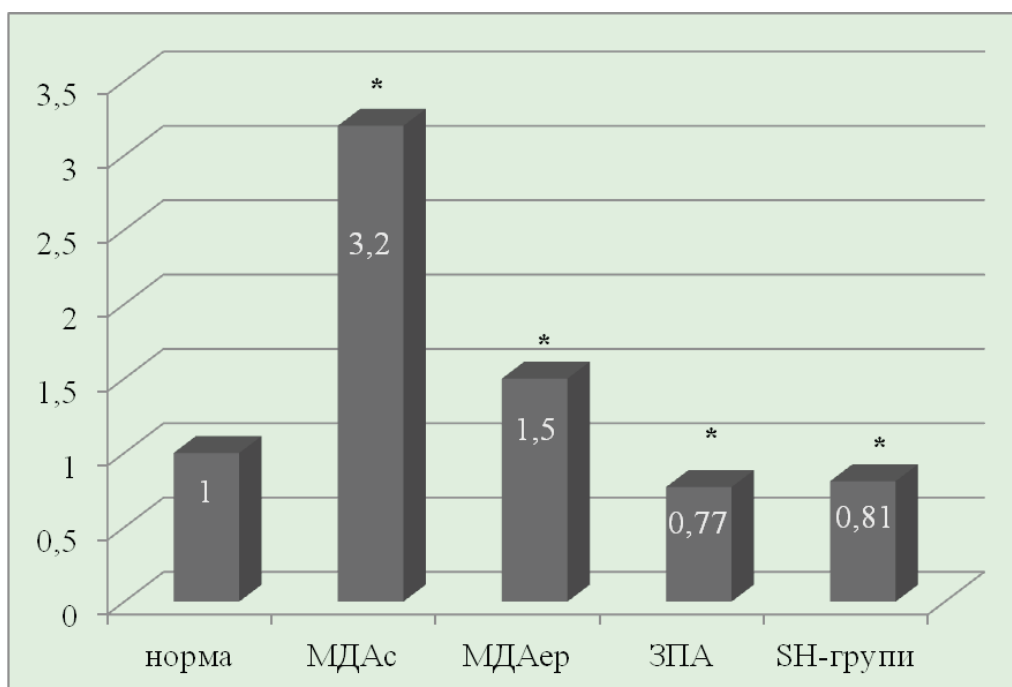
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що вміст МДА в сироватці крові був підвищеним у 85 (89 %) хворих та у 10 (11%) пацієнтів не відрізнялася від нормальних значень. Коливання показників активності МДА сироватки було від 64,3 мкмоль/л до 707,3 мкмоль/л.

Вміст МДА еритроцитів був підвищеним у 65 (68 %) хворих та у 30 (32%) не відрізнялася від нормальних значень. Коливання показників активності МДА еритроцитів було від 450,1 мкмоль/л до 1414,6 мкмоль/л.

ЗПА еритроцитів була зниженою у 72 (76%) та у 23 (24%) не відрізнялася від нормальних значень. Коливання значень активності ЗПА було від 159,9 мкмоль/хв. на 1 г Нв до 489,7 мкмоль/хв. на 1 г Нв.

Вміст SH-груп у сироватці крові був зниженим у 86 (90,5%) та у 9 (9,5%) не відрізнявся від нормальних значень. Коливання значень рівнів SH-груп в сироватці крові було від 1,1 ммоль/л до 2,34 ммоль/л.

Середній вміст МДА сироватки та МДА еритроцитів у хворих на ХХН був достовірно підвищений в порівнянні з відповідними значеннями в групі контролю, а показники АОС – ЗПА еритроцитів та вміст SH-груп в сироватці крові були достовірно знижені від відповідних значень в групі контролю (рис. 2.)



* - різниця з нормою достовірна ($p < 0,001$)

Рис. 2. Показники ПОЛ та АОС в крові хворих на ХХН I-V ст.

Також було вивчено показники ПОЛ/АОС в залежності від стадії ХХН (табл. 2).

Рівень МДА сироватки крові хворих на ХХН I-V ст. перевищує нормальні показники в 3,2 рази – 383 ± 163 мкмоль/л проти 119 ± 35 мкмоль/л ($p < 0,001$). Як бачимо з табл. 1 середня концентрація МДА сироватки була достовірно підвищеною порівняно з нормою в усіх групах

хворих ($p < 0,001$). При проведенні тесту Дункана виявлено, що ця різниця є достовірною не тільки порівняно з нормою, але й між групами ХХН I та II ст. з одного боку та ХХН III, IV та V ст.; а також ХХН III ст. та ХХН V ст. ($p < 0,05$). Не було виявлено достовірної різниці між наступними групами: ХХН I ст. та ХХН II ст., ХХН III та ХХН IV ст., а також ХХН IV ст. та ХХН V ст.

Таблиця 2

Показники ПОЛ/АОС при різних стадіях ХХН

Показники ПОЛ/АОС	Група хворих					
	ХХН I ст. (n=20)	ХХН II ст. (n=21)	ХХН III ст. (n=19)	ХХН IV ст. (n=20)	ХХН V ст. (n=15)	Норма (n=30)
МДА сироватки, мкмоль/л	206±72*	273±82*	424±106*	502±84*	562±129*	119±35
МДА еритроцитів, мкмоль/л	601±112	659±112*	804±179*	974±215*	1017±235*	549±51
ЗПА еритроцитів, мкмоль/хв. на 1 г Нб	437±40**	384±56*	335±37*	310±14*	281±69*	457±20
SH-групи, ммоль/л	2,1±0,18**	1,9±0,12*	1,8±0,11*	1,66±0,21*	1,53±0,21*	2,22±0,12

Примітка: дані представлені як M±SD

-*p<0,001 порівняно з нормою

-**p<0,05 порівняно з нормою

Достовірно підвищений рівень МДА еритроцитів крові — 799±234 мкмоль/л проти 549±51 мкмоль/л відповідно (p<0,001). Крім того, відмічено достовірне збільшення вмісту МДА еритроцитів при прогресуванні ХХН від I до V стадії. При проведенні тесту Дункана виявлено, що ця різниця є достовірною не тільки порівняно з нормою, але й між групами ХХН I ст. з одного боку та ХХН III, IV та V ст. з іншої (p<0,05), різниця між ХХН I та II ст. недостовірна. Достовірною є різниця між показниками МДА еритроцитів крові при ХХН II ст. та ХХН IV та V ст. (p<0,05), різниця між показниками при ХХН II та III ст. недостовірна. Достовірною є різниця між показниками при ХХН III ст. та ХХН IV та V ст. (p<0,05), різниця між показниками при ХХН IV та V ст. недостовірна.

Дослідження ЗПА еритроцитів крові продемонструвало зниження середніх показників у хворих в порівнянні зі здоровими донорами майже на третину — до 353±71 мкмоль/хв. на 1 г Нб проти 456±20 мкмоль/хв. на 1 г Нб (p<0,001) в нормі. Аналізуючи ЗПА еритроцитів у пацієнтів з ХХН відмічено, що найбільші значення констатовані відповідно при ХХН I ст. Різниця між значеннями ЗПА еритроцитів при різних стадіях ХХН є достовірною (p<0,001). При проведенні тесту Дункана виявлено, що ця різниця стосується показників при ХХН I ст. та при ХХН III, IV та V ст. (p<0,05), різниця між показниками ЗПА еритроцитів при ХХН I та II ст. недостовірна. Достовірною є різниця між показниками при ХХН II ст. та ХХН IV та V ст. (p<0,05), різниця між показниками при ХХН II та III ст. недостовірна. Достовірною є різниця між показниками при ХХН III ст. та ХХН IV та V ст., а

також різниця між показниками при ХХН IV та V ст. (p<0,05).

Дослідження вмісту SH-груп у сироватці крові продемонструвало зниження середніх показників у хворих в порівнянні зі здоровими донорами майже на 20% — до 1,81±0,26 ммоль/л проти 2,22±0,02 ммоль/л (p<0,001). Аналізуючи вміст SH-груп при різних стадіях ХХН відмічено, що найбільші значення відповідають ХХН I ст. При цьому різниця між значеннями вмісту SH-груп при різних стадіях ХХН є достовірною (p<0,001). При проведенні тесту Дункана виявлено, що ця різниця стосується показників при ХХН I ст. та при ХХН III, IV та V ст. (p<0,05), різниця між показниками вмісту SH-груп при ХХН I та II ст. недостовірна. Достовірною є різниця між показниками вмісту SH-груп при ХХН II ст. та ХХН IV та V ст., а також різниця між показниками вмісту SH-груп при ХХН III та V ст., а також різниця між показниками вмісту SH-груп при ХХН IV та V ст. (p<0,05). Недостовірною є різниця між показниками вмісту SH-груп при ХХН II та III ст., а також ХХН III та IV ст.

Підвищений рівень маркерів оксидативного стресу, виявлений у крові пацієнтів з ХХН, говорить про те, що уремія є прооксидантним станом. Показники активності процесів ПОЛ як складової оксидативного стресу виявились підвищеними вже на початкових стадіях ХХН, їх значення прогресивно наростали з падінням швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) <60 мл/хв.

Для оцінки взаємозв'язку між досліджуваними параметрами ПОЛ та АОС та деякими клініко-лабораторними показниками (ШКФ, добовою протеїнурією та рівнем гемоглобіну)

був проведений кореляційний аналіз, що дозволило отримати наступні результати.

Виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями ШКФ та МДА сироватки ($r=-0,65$, $p<0,001$), достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями ШКФ та МДА еритроцитів ($r=-0,61$, $p<0,001$).

Виявлений достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями ШКФ та ЗПА еритроцитів ($r=0,52$, $p<0,001$). Виявлений достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями ШКФ та SH-груп сироватки крові ($r=0,43$, $p<0,001$).

Виявлений достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями добової протеїнурії та МДА сироватки ($r=0,5$, $p<0,001$). Виявлений достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями добової протеїнурії та МДА еритроцитів ($r=0,42$, $p<0,001$). Виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями добової протеїнурії та ЗПА еритроцитів ($r=-0,71$, $p<0,001$). Виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями добової протеїнурії та SH-груп сироватки крові ($r=-0,34$, $p=0,005$).

Виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями гемоглобіну та МДА еритроцитів ($r=-0,31$, $p=0,008$). Виявлений достовірний негативний кореляційний зв'язок між рівнями гемоглобіну та МДА сироватки ($r=-0,44$, $p<0,001$).

Таким чином, отримані дані дозволяють припустити важливу роль порушення рівноваги між процесами ПОЛ та АОС як в розвитку та прогресуванні ХХН, так і в розвитку ускладнень ХХН, зокрема анемії. Тобто, відбувається активація процесів ПОЛ, що сприяє генералізації мембранодеструктивних процесів при прогресуванні ХХН за рахунок розвитку оксидативних та атеросклеротичних змін у нирках, а порушення балансу між оксидативними та антиоксидативними реакціями (в бік надлишкового утворення ліпідних пероксидів) - є цитотоксичним для нирок [1,2]. Механізми нефротоксичної дії продуктів ПОЛ можуть бути різними, зокрема ініціація та підтримання процесів хронічного запалення [1], а також пряма цитотоксична дія продуктів ПОЛ, активація апоптозу [8].

ВИСНОВКИ:

1. Розвиток ХХН супроводжується посиленням ПОЛ на тлі зменшення активності АОС.
2. При прогресуванні ХХН спостерігається достовірне ($p<0,001$) підвищення показників активності ПОЛ - збільшення рівнів МДА сироватки та еритроцитів. При цьому активність АОС достовірно ($p<0,001$) зменшується з прогресуванням захворювання - зменшення рівнів SH-груп та показників ЗПА еритроцитів.

3. Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем ШКФ з одного боку та показниками активності процесів ПОЛ (рівнями МДА сироватки та еритроцитів) з іншого й позитивний - між рівнями ШКФ та показниками антиоксидантного захисту (ЗПА еритроцитів та рівнем SH-груп) (для всіх $p<0,05$).
4. Виявлений позитивний кореляційний зв'язок між рівнем добової протеїнурії з одного боку показниками активності процесів ПОЛ (рівнями МДА сироватки та еритроцитів) з іншого; негативний - між рівнями добової протеїнурії та показниками антиоксидантного захисту (ЗПА еритроцитів та рівнем SH-груп) (для всіх $p<0,05$).
5. Виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем гемоглобіну з одного боку та показниками активності процесів ПОЛ (рівнями МДА сироватки та еритроцитів) з іншого й позитивний - між рівнями ШКФ та показниками антиоксидантного захисту (ЗПА еритроцитів та рівнем SH-груп) (для всіх $p<0,05$).
6. Визначені напрямки кореляційного зв'язку між досліджуваними параметрами процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту говорять про те, що оксидативний стрес може бути не тільки однією з ланок патогенезу ХХН, але й одним з ймовірних механізмів її прогресування та розвитку ускладнень, зокрема анемії.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Oxidative stress and inflammation in renal patients and healthy subjects [Електронний ресурс] / D. M. Lee, K. W. Jackson, N. Knowlton [et al.] // PLoS ONE. - 2011. - Vol. 6(7) : e22360. Режим доступу до статті: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0022360>
2. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options [Текст] / M. P. Kao, D. S. Ang, A. Pall, A. D. Struthers // J. Hum. Hypertens. - 2010. - Vol. 24(1). - P. 1-8.
3. Descamps-Latscha B. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy [Текст] / B. Descamps-Latscha, T. Drueke, V. Witko-Sarsat // Semin. Dial. - 2001. - Vol. 14(3). - P. 193-199.
4. Del Vecchio L. What we know about oxidative stress in patients with chronic kidney disease on dialysis—clinical effects, potential treatment, and prevention [Текст] / L. Del Vecchio, F. Locatelli, M. Carini // Semin. Dial. - 2011. - Vol 24 (1) - P. 56-64.
5. Oxidative stress during peritoneal dialysis: implications in functional and structural changes in the membrane [Текст] / H. Noh, J. S. Kim, K. H. Han [et al.] // Kidney Int. - 2006. - Vol. 69(11). - P. 2022-2028.
6. Markers of inflammation and oxidative stress in peritoneal dialysis: a comparison between high and

- low peritoneal transporters [Текст] / D. N. Cruz, S.S. Soni, N. Polanco [et al.] // *J. Nephrol.* – 2010. – Vol. 23(4). – P. 453-458.
7. Study of oxidative stress in advanced kidney disease [Текст] / M. J. Puchades Montesa, M. A. González Rico, M. A. Solís Salguero [et al.] // *Nefrología.* – 2009. – Vol. 29 (5). – P. 464-473.
8. *Finkel T.* Oxidant signals and oxidative stress [Текст] / T. Finkel // *Current Opinion in Cell Biology.* – 2003. – Vol. 15 (2) – P. 247–254.
9. *Nathan C.* Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling [Текст] / C. Nathan // *Journal of Clinical Investigation.* – 2003. – Vol. 111 (6). – P. 769–778.
10. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты [Текст] / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Сборник «Современные методы в биохимии». – М.: Медицина, 1977. – С. 66-67.
11. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике [Текст] / В. С. Камышников. – Минск : «Беларусь». – 2002, Т.1. – 495 с.
12. *Попов Т.* Метод определения пероксидазной активности крови [Текст] / Т. Попов, Л. Нейковска // *Гигиена и санитария.* – 1971. – №1. – С. 89-91.
13. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? [Текст] / P. Stenvinkel, J. Je. Carrero, J. Axelsson [et al.] // *CJASN.* – 2008. – Vol. 3. – P. 505-521.

Надійшла до редакції 23.04.2012

Прийнята до друку 07.05.2012