

УДК 616.98-036.1:578.825.13]:577.112.6:575.22

*О.Г. Сорокіна * **, М.М. Попов * **, Т.І. Лядова **

** Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна,
Медичний факультет*

*** ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України»,
м. Харків*

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ ЕПШТЕЙНА–БАРР З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-28

Актуальність вірусної інфекції Епштейна–Барр (ВЕБ) обумовлена високим ступенем інфікування населення в усьому світі (95% дорослого населення). Встановлювали типи імунного реагування на підставі аналізу динаміки різноспрямованого синтезу цитокінів у хворих з хронічною ВЕБ-інфекцією з різними генотипами ІЛ-28. Було обстежено 64 пацієнта з ВЕБ; у контрольну групу увійшли 20 здорових людей. В результаті проведеного дослідження було виявлено кореляційний зв'язок між генотипом ІЛ-28 та формуванням дисоціативного або гіпореактивного типу імунного реагування. Це може бути корисним при прогнозуванні перебігу захворювання у пацієнтів з хронічною ВЕБ-інфекцією та дозволить оптимізувати терапію шляхом введення в схему лікування певної групи пацієнтів імунокоригуючої терапії.

Ключові слова: цитокіни, генотип, імунітет, типи імунного реагування, інтерлейкін-28, хронічна ВЕБ-інфекція.

Вступ

Століття, в якому ми живемо, вважається століттям опортуністичних інфекцій завдяки зростаючому впливу несприятливих факторів навколишнього середовища на організм та, перш за все, на імунну систему. Інфекційні захворювання займають провідне місце в патології людини. Серед численних факторів, які безпосередньо впливають на імунну систему, на особливу увагу заслуговують герпесвірусні інфекції [1].

Вірус Епштейна–Барр (ВЕБ) відноситься до сімейства *Herpesviridae*. Інфекції, викликані цим вірусом, є найбільш поширеними і займають важливе місце в структурі захворювань герпесвірусної етіології. Це пов'язано з високим ступенем інфікування населення в усьому світі, оскільки специфічні антитіла до даного вірусу виявляються майже у 95% дорослого населення [2–4]. Особливий інтерес викликає специфічна тропність цього вірусу до імунокомпетентних клітин, системне ураження внутрішніх органів, широкий діапазон клінічних форм захворювання, а також відсутність специфічної профілактики [5, 6].

Однією з важливих проблем сучасної медичної науки є запальна реакція, яка виникла на ранніх етапах еволюції і має дві незмінні риси: з одного боку, це процес, що допомагає організму в боротьбі за виживання, з іншого – це пошкодження з загрозою для органа або для всього організму. Реакцію запалення *in vivo* регулює система первинних і вторинних медіаторів. До первинних медіаторів відноситься сімейство цитокінів. Цитокіни здатні проявляти біологічну активність як дистанційно, після секреції кліткою-продуцентом (місцево і системно), так і при міжклітинному контакті, будучи біологічно активними у вигляді мембранної форми. Синтезуючись в осередку запалення, цитокіни впливають практично на всі клітини, що беруть участь в запальній реакції, включаючи гранулоцити, макрофаги, фібробласти, клітки ендотелію та епітелію, а потім на Т- і В-лімфоцити. В рамках імунної системи цитокіни здійснюють взаємозв'язок між неспецифічними захисними реакціями і специфічним імунітетом, діючи в обох напрямках. Цитокіни синтезуються у відповідь на стимуляцію через короткий проміжок часу.

© О.Г. Сорокіна, М.М. Попов, Т.І. Лядова, 2017

Потрібно відзначити, що більшість цитокінів продукується не постійно, вони швидко синтезуються і секретуються під впливом антигенних і інших стимулів у малих кількостях. Тільки при інтенсивному і тривалому запальному процесі в крові відбувається накопичення прозапальних цитокінів, які можуть впливати на клітини дистальних органів. Синтез припиняється завдяки різноманітним механізмам ауторегуляції, включаючи підвищену нестабільність РНК, і існуванню негативних зворотних зв'язків, опосередкованих простагландінами, кортикостероїдним гормоном та іншими факторами. Одні й ті ж цитокіни можуть продукуватися різними типами клітин організму в різних органах. Незважаючи на те, що більшість цитокінів є типовими індукційними медіаторами і не синтезуються клітинами поза запальної реакції та імунної відповіді, деякі не потрапляють під це правило. Частина цитокінів синтезується постійно, і значна їх кількість циркулює, регулюючи проліферацію і диференціювання окремих типів клітин. Узагальнено аналізуючи чинні наукові дані, можна зазначити, що на тканинному рівні цитокіни відповідають за розвиток запалення і регенерацію тканин. За умови розвитку системної запальної реакції вони впливають практично на всі органи і системи організму, беручи участь у регуляції гомеостазу [7].

Отже, на сучасному етапі розвитку медичної науки вже доведено, що ініціаторами імунної відповіді в організмі людини є цитокіни, які не тільки беруть активну участь у формуванні регуляторних захисних реакцій, але й забезпечують гомеостаз організму у цілому. Дисбаланс у системі цитокінового регуляторного ланцюга є ключовою ланкою імунних порушень при ВЕБ-інфекції [8, 9].

Прогнозування результатів ВЕБ-інфекції залежить від наявності та інтенсивності проявів імунної дисфункції, генетичної схильності до тих чи інших ВЕБ-асоційованих захворювань, а також від наявності ряду зовнішніх чинників (несприятливий вплив навколишнього середовища, стреси, інфекції, операційні втручання тощо), що ушкоджують імунну систему [10].

Однонуклеотидний поліморфізм – це відмінності послідовності ДНК розміром в один нуклеотид в геномі представників одного виду або між гомологічними ділянками гомологічних хромосом. Ділянка ДНК у регуляторній ділянці гена ІЛ-28В, в якому відбувається заміна нуклеотиду цитозин (С) на

тимін (Т), позначається як генетичний маркер rs12979860 (позначення ОПН по базі даних NCBI). Існують наступні можливі його генотипи: СС, СТ і ТТ.

На сьогоднішній день відомо, що ІЛ-28А, ІЛ-28В і ІЛ-29, які також носять назву інтерферон-лямбда (ІНФ-λ) 2, 3 та 1 відповідно, відносяться до сімейства цитокінів 2-го класу і являють собою нещодавно відкриту групу противірусних цитокінів. В літературі є роботи, в яких показано, що білки ІНФ-λ є важливими для елімінації вірусного гепатиту С, проте їх роль у пацієнтів з хронічною ВЕБ до теперішнього часу не вивчалася [11–13]. Порушення балансу між основними регуляторними цитокінами, безумовно, може призводити до тривалої персистенції ВЕБ і бути причиною частих рецидивів. Також цей дисбаланс може сприяти прогресуванню захворювання. З цих позицій ВЕБ-інфекцію можна розглядати як «незбалансовану цитокінемію» [10].

Дослідженнями останніх років встановлено, що цитокіновий спектр при ВЕБ-інфекції залежить від збалансованості ланок імунної відповіді організму, а порушення балансу продукції цитокінів Th1/Th2 клітинами грає важливу роль в імунопатогенезі. Більшість дослідників сходяться на думці, що переважна участь цитокінів, що продукуються Th-2-лімфоцитами, асоціюється з вірусною персистенцією і хронізацією процесу, а Th-1 – зі спонтанним одужанням і елімінацією збудника [14]. Незважаючи на значні досягнення в цій галузі, багато питань характеру цитокін-продукуючої здатності імункомпетентних клітин та їх імунопатогенетичні особливості при хронічній ВЕБ-інфекції на сьогоднішній день залишаються нез'ясованими. Тому актуальним залишається питання вивчення даних про продукцію основних регуляторних цитокінів з встановленням типів імунологічного реагування у пацієнтів з хронічною ВЕБ-інфекцією [5, 8, 9, 14].

Мета та завдання дослідження – встановити типи імунного реагування на підставі аналізу динаміки різноспрямованого синтезу цитокінів (ІЛ-1β, ФНП-α, ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-10) у хворих з хронічною ВЕБ-інфекцією з різними генотипами ІЛ-28 та виявити можливе існування кореляційного зв'язку між генотипом ІЛ-28 та формуванням того чи іншого типу імунного реагування.

Матеріал і методи

Обстежено 64 пацієнта з хронічною ВЕБ, основними клінічними проявами в яких були

різні імунопатологічні та імунodefіцитні стани. Серед них жінки становили 65,6% (n=42), чоловіки – 34,4% (n=22). Вік пацієнтів становив від 19 до 57 років, середній – (33,0±11,7) року. Серед клінічних форм ВЕБ-інфекції у пацієнтів досліджуваних груп переважали хронічний тонзиліт (n=23), неспецифічна лімфаденопатія (n = 18), тривалий субфебрилітет (n=12), синдром хронічної втоми (n=9), реактивний артрит (n=2). Групу порівняння склали 20 клінічно здорових молодих людей без ознак гострої або будь-якої хронічної патології, з яких 16 були обстежені на маркери ВЕБ, середній вік – (24,1±3,2) року. В анамнезі життя були відсутні дані про перенесення інфекційного мононуклеозу. При дослідженні крові були виявлені тільки EBNA-Ig G, ДНК ВЕБ була відсутня у плазмі крові і у слині.

Обстеження хворих включало в себе проведення клінічного аналізу крові, виявлення наявності атипових мононуклеарів, виявлення специфічних противірусних антитіл (VCA-IgM, EA-IgM та EBNA-IgG) в сироватці крові методом щільнофазного імуоферментного аналізу (ІФА) наборами виробництва «ІВЛ» і «Вектор-Бест», виявлення ДНК ВЕБ методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у крові та слині, активність аспарагінової та аланінової трансаміназ (АсАТ, АлАТ) у динаміці захворювання. Молекулярно-генетичні дослідження включали визначення реплікативної активності ВЕБ на підставі виявлення в сироватці крові ДНК ВЕБ методом ПЛР за допомогою тест-системи виробництва НВФ «Літех».

Сироваткові концентрації досліджуваних цитокінів ІЛ-1 β , ФРО- α , ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 визначалися за допомогою тест-систем ТОВ «Протеїновий контур» з використанням інструкції виробника і щільнофазного ІФА. Матеріалом для досліджень служила сироватка крові хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію, яка була отримана в період загострення хвороби. Для визначення поліморфізму генів використовували метод поліморфізму довжин рестриктивних фрагментів (ПДРФ) та метод ПЛР у режимі «реального часу» на ампліфікаторі Rotor-Gene-3000 фірми Corbett Research і на детекторному ампліфікаторі ДТ-96 фірми «ДНК-технологія».

Для визначення алельних варіацій гена ІЛ-28В використовували комерційну тест-систему фірми «ДНК-технологія». Для детекції досліджуваних поліморфізмів проводили ампліфікацію певних ділянок відповідних генів. Для виявлення точкових мутацій SNP

39738787С > Т (rs12979860) гена ІЛ-28В використовували методи ПЛР і ПДРФ. Як матеріал для дослідження використовували ДНК, отриману з лейкоцитів за допомогою реагентів для виділення ДНК з клінічного матеріалу. Детекцію поліморфізму гена ІЛ-28В rs12979860 проводили методом ПЛР у режимі «реального часу» на ампліфікаторі ДТ-96 фірми «ДНК-технологія». Автоматична детекція результатів ампліфікації проводилася приладом ДП-96. ПЛР проводили в обсязі 35 мкл у розчині наступного складу: 20 мл розчину праймерів, 10 мкл суміші Таq-полімерази і буфера, а також 5 мкл ДНК.

Робота була виконана на кафедрі загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна та клінічних баз кафебри (Обласна клінічна інфекційна лікарня м. Харкова і КЗОЗ «Міська поліклініка № 6», а також на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАН України») в період 2014–2017 рр. Отримані результати статистично обробили.

Результати та їх обговорення

При вивчення поліморфізму генів ІЛ-28 у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію виявили наступні генотипи: СС – 28 пацієнтів (43,75%), СТ – 20 пацієнтів (31,25%) та ТТ – 16 пацієнтів (25%). Аналізуючи динаміку цитокінового профілю у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію, виявили різноспрямовані зміни синтезу досліджуваних прозапальних і протизапальних цитокінів, що було підставою для встановлення двох типів імунного реагування: дисоціативного та гіпорективного. У хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію з генотипом СС спостерігали переважно дисоціативний тип імунного реагування (рис. 1). У пацієнтів цієї групи відзначалася низька продукція прозапальних цитокінів і регуляторного ІЛ-2, тоді як рівні протизапальних ІЛ-4 і ІЛ-10 достовірно підвищувалися відповідно до активності процесу. Рівень ІЛ-4 перевищував такий в контрольній групі у 5,7 раза, а ІЛ-10 у 6 разів перевищував середні значення групи контролю (p<0,05).

У хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію з генотипом СТ спостерігався як дисоціативний тип імунного реагування, так і гіпорективний, але переважно зустрічався дисоціативний.

Серед хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію з генотипом ТТ переважно спостерігався гіпорективний тип імунного реагування (рис. 2).

У пацієнтів цієї групи синтез прозапальних і протизапальних цитокінів характери-

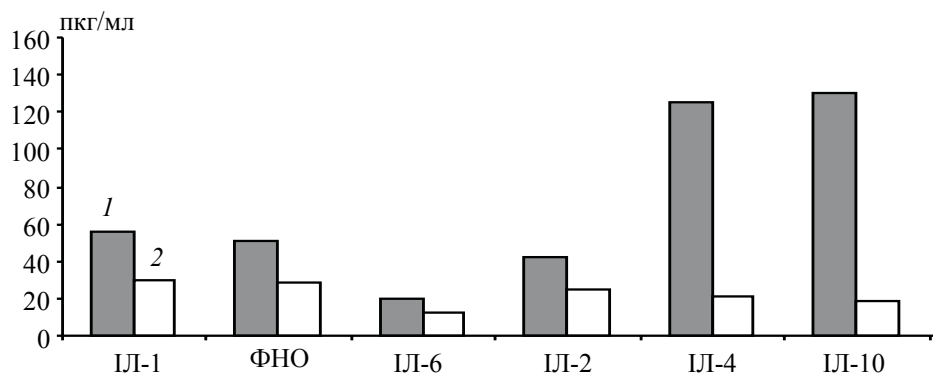


Рис. 1. Дисоціативний тип імунного реагування у пацієнтів, хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію (1), та в контролі (2)

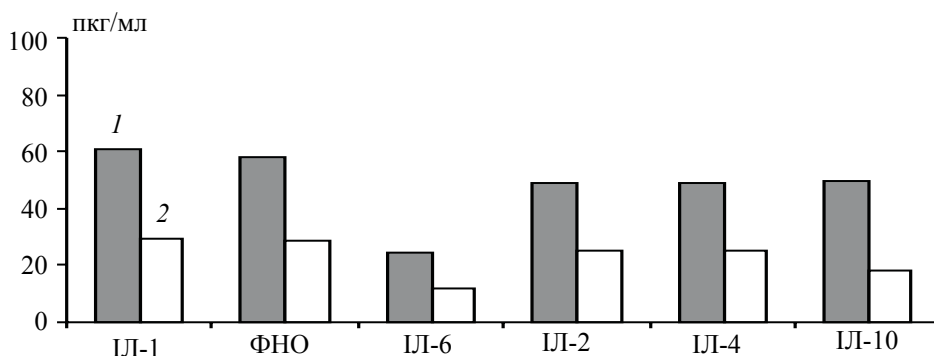


Рис. 2. Гіпорективний тип імунного реагування у пацієнтів, хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію (1), та в контролі (2)

зувався низькими концентраціями (рівні ІЛ-1 β коливалися від 25,37 до 72,14 пг/мл; ФНП- α – від 32,3 до 67,4 пг/мл; ІЛ-6 – від 16,4 до 27,4 пг/мл; ІЛ-2 – від 35,15 до 81,2 пг/мл; ІЛ-4 – від 25,4 до 96,47 пг/мл; ІЛ-10 – від 36,36 до 99,2 пг/мл), показники знаходилися практично в межах значень контрольної групи і не відрізнялися статистичною достовірністю ($p > 0,05$).

Висновки

Встановлено відмінність сформованих типів імунного реагування у хворих на хронічну ВЕБ-інфекцію з різними генотипами ІЛ-28 та

неоднакову клітинно-гуморальну реактивність організму у таких пацієнтів. Це, у свою чергу, проявляється неоднаковою схильністю до пригнічення клітинно-опосередкованих і посилення гуморальних механізмів імунної відповіді. Виявлений кореляційний зв'язок між генотипом ІЛ-28 і формуванням дисоціативного або гіпорективного типу імунного реагування може бути корисним при прогнозуванні перебігу захворювання та дозволить оптимізувати терапію шляхом введення в схему лікування певної групи пацієнтів імунотропної терапії.

Список літератури

1. *Возіанова Ж.І., Глей А.І.* Інфекційний мононуклеоз як поліетіологічне захворювання // Сучасні інфекції. 2004. № 2. С. 37–41.
2. *Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В.* Герпесвирусные инфекции человека: Руководство для врачей. СПб., 2006. 303 с.
3. *Прохорова Н.А., Волчкова Е.В., Михайловская Г.В.* Клиническое значение молекулярно-генетических и серологических исследований в диагностике инфекционного мононуклеоза // Инфекционные болезни. 2008. Т. 6, № 2. С. 17–20.
4. *Горейко Т.В., Калинина Н.М., Дружина Л.В.* Роль цитокинов в патогенезе хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Цитокины и воспаление. 2011. № 4. С. 44–49.
5. *Красницкая А.С., Боровская Н.А.* Иммунологические аспекты хронического тонзиллита, ассоциированного с вирус Эпштейна–Барр инфекцией // Фундаментальные исследования. 2012. № 4. Ч. 2. С. 299–305.

6. Домникова Н.П., Петрусенко Е.Е., Решетников О.В. и др. Уровень сывороточных цитокинов при лимфопролиферативных заболеваниях // Новости «Вектор-Best». 2010. № 2 (56). С. 4–7.

7. Кочубей О.А. Цитокини як первинні медіатори в регуляції реакції запалення // Загально-терапевтична практика: Нові технології та міждисциплінарні питання: Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 7 листопада 2013 р. Національний Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України, Харківський національний медичний університет. Харків, 2013. С. 164.

8. Cen O., Longnecker R. Latent Membrane Protein 2 (LMP2) // Curr. Top Microbiol. Immunol. 2015. № 391. P. 151–180.

9. Fish K., Chen J., Longnecker R. Epstein–Barr virus latent membrane protein 2A enhances MYC-driven cell cycle progression in a mouse model of B lymphoma // Blood. 2014. № 123. P. 530–540.

10. Fukuda M., Kawaguchi Y. Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein–Barr virus LMP2A-induced cell transformation // J. Virology. 2014. № 88. P. 5189–5194.

11. Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W. et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R / P. Sheppard // Nature Immunol. 2003. № 4 (1). P. 63–68.

12. Thompson A.J., Muir A.J., Sulkowski M.S. et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus // Gastroenterology. 2010. № 139 (10). P. 120–129.

13. Zekri A., Abdullah D., Osman A. et al. Epstein–Barr virus and Interleukin-28B polymorphism in the prediction of response to interferon therapy in hepatitis C patients // Arab J. Gastroenterology. 2015. № 16 (3). P. 84–89.

14. Griffin B.D., Gram A.M., Mulder A. et al. EBV BILF1 evolved to downregulate cell surface display of a wide range of HLA class I molecules through their cytoplasmic tail // J. Immunology. 2013. № 190. C. 1672–1684.

References

1. Vozianova Z.I., Gley A.I. (2004). Infektsiyniy mononukleoz yak polietiologichne zahvoruvannya. Suchasni infekcii. 2. 37–41 [in Ukrainian].

2. Isakov V.A., Arhipova E.I., Isakov D.V. (2006). Gerpesvirusnie infekcii cheloveka: rukovodstvo dlya vrachey. Spb. 303 p.

3. Prohorova N.A., Volochkova E.V., Mihaylovskaya G.V. (2008). Klinicheskoe znachenie molekularno-geneticheskikh i serologicheskikh issledovaniy v diagnostike infektsionnogo mononukleozu // Infektsiynie bolezni. 6. 2. 17–20 [in Russian].

4. Goreyko T.V., Kalinina N.M., Druzhinina L.V. (2011). Role citokinov v patogeneze hronicheskoy infekcii, vizvannoy virusom Epsteina–Barr // Citokini i vospalenie. 4. 44–49.

5. Krasnickaya A.S., Borovskaya N.A. (2012). Immunologicheskie aspekty hronicheskogo tonsillita, assotsirovannogo s virusom Epsteina–Barr // Fundamentalnie issledovaniya. 4, 2. 299–305.

6. Domnikova N.P., Petrusenko E.E., Reshetnikov O.V., Rizhikova S.L., Varaksin N.A. (2010). Uroven sivorotochnih citokinov pri limfoproliferativnih zbolevaniyah // Novosti «Vector-Best». 2010. 2 (56). 4–7.

7. Kochubey O.A. (2013). Citokini, yak pervinni mediatori v regulyacii reakcii vospaleniya // Zagalnoterapevtichna praktika: Novi tehnologii ta mizhdisciplinarni pitannya: Materiali naukovopraktichnoyi konferencii z mizhnarodnoyu uchastyu, 7 listopada, 2013 r. Nacionalniy Institut terapii im. L.T. Maloy NAMN Ukraini, Kharkivskiy nacionalniy medichniy universitet. Kharkiv, 2013. P. 164.

8. Cen O., Longnecker R. (2015). Latent Membrane Protein 2 (LMP2) // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 391. 151–180.

9. Fish K., Chen J., Longnecker R. (2014). Epstein–Barr virus latent membrane protein 2A enhances MYC-driven cell cycle progression in a mouse model of B lymphoma // Blood. 123. 530–540.

10. Fukuda M., Kawaguchi Y. (2014). Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein–Barr virus LMP2A-induced cell transformation // J. Virology. 88. 5189–5194.

11. Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W. et al. (2003). IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R // Nature Immunol. 4 (1). 63–68.

12. Thompson A.J., Muir A.J., Sulkowski M.S. et al. (2010). Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus // *Gastroenterology*. 139 (10). 120–129.

13. Zekri A., Abdullah D., Osman A. et al. (2015). Epstein–Barr virus and Interleukin-28B polymorphism in the prediction of response to interferon therapy in hepatitis C patients // *Arab J. Gastroenterology*. 16 (3). 84–89.

14. Griffin B.D., Gram A.M., Mulder A. et al. (2013). BV BILF1 evolved to downregulate cell surface display of a wide range of HLA class I molecules through their cytoplasmic tail // *J. Immunology*. 190. 1672–1684.

О.Г. Сорокина, М.М. Попов, Т.И. Лядова

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ЭПШТЕЙНА–БАРР С РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-28

Актуальность вирусной инфекции Эпштейна–Барр (ВЭБ) обусловлена высокой степенью инфицирования населения во всем мире (95% взрослого населения). Устанавливали типы иммунного реагирования на основании анализа динамики разнонаправленного синтеза цитокинов у больных хронической ВЭБ-инфекцией с различными генотипами IL-28. Было обследовано 64 пациента с ВЭБ; в контрольную группу вошли 20 здоровых людей. В результате проведенного исследования была выявлена корреляционная связь между генотипом IL-28 и формированием диссоциативного или гипореактивного типа иммунного реагирования. Это может быть полезным при прогнозировании течения заболевания у пациентов с хронической ВЭБ-инфекцией и позволит оптимизировать терапию путем введения в схему лечения определенной группы пациентов иммунокорректирующей терапии.

Ключевые слова: цитокины, генотип, иммунитет, типы иммунного реагирования, интерлейкин-28, хроническая ВЭБ-инфекция.

О.Г. Sorokina, N.N. Popov, T.I. Liadova

CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH CHRONIC EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION WITH DIFFERENT GENOTYPES OF INTERLEUKIN-28

The relevance of the Epstein–Barr virus infection (VEB) is due to a high degree of infection of the population around the world (95% of the adult population). The purpose of this work was to establish the types of immune response based on the analysis of the dynamics of multidirectional cytokine synthesis in patients with chronic VEB-infection with different IL-28 genotypes. We examined 64 patients with chronic VEB-infection; the control group included 20 healthy people. As a result of the study, a correlation was found between the genotype of IL-28 and the formation of a dissociative or hyporeactive type of immune response. This can be useful in predicting the course of the disease in patients with chronic VEB infection and will optimize therapy by introducing into the treatment regimen certain patient's immunocorrective therapy.

Keywords: cytokines, genotype, immunity, types of immune response, interleukin-28, chronic VEB-infection.

Надійшла до редакції 16.09.17