

<https://doi.org/10.35339/msz.2020.89.04.02>
УДК 616.379-008.64-06:616.61-008.6]-02-092

О.А. Оленович

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ТУБУЛОІНТЕРСТИЦІЙНОГО УРАЖЕННЯ НИРОК НА ПОЧАТКОВИХ ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Досліджено тубулоінтерстиційні розлади за 11-денного експериментального алоксан-індукованого цукрового діабету. Дійшли висновку, що зміни концентраційних градієнтів натрію та калію відбуваються вже на ранніх етапах розвитку патології і вказують на ініціацію каналцевих дисфункцій, які супроводжуються посиленням натрійурезу та калійурезу. Незважаючи на регуляторний контроль поворотно-множильної системи нирок і посилення реабсорбції натрію та калію на рівні висхідного відділу петлі Генле, подальше прогресування тубулопатії призводить як до відносної недостатності проксимального й дистального каналців, так і до порушення гормонально-залежної реабсорбції катіонів, пригнічення альдостерон- та вазопресин-залежних механізмів регуляції осмолярності інтерстицію з розвитком тубулоінтерстиційних порушень, що унеможливають адекватне осмотичне концентрування сечі.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, алоксан, концентраційні градієнти іонів натрію і калію, тубулоінтерстиційне ураження нирок.

Вступ

Діабетичне ураження нирок виникає за різної тривалості хвороби і має прогресуючий перебіг – від мікроальбумінурії до нефротичного синдрому, від нормальної функції нирок до термінальної хронічної ниркової недостатності. Незважаючи на численні спроби вивчення механізмів діабетичного ураження нирки, не з'ясованими досі залишаються питання ініціації пошкодження ниркової тканини, зміни функціональних адаптивно-компенсаторних механізмів структурно-дезадаптивними патологічними процесами, що призводять до прогресуючої втрати маси функціонуючих нефронів у динаміці розвитку діабету.

З-поміж численних обговорюваних у науковій літературі механізмів прогресування хронічної хвороби нирок за цукрового діабету

тубулоінтерстиційним порушенням відводиться провідна роль [1]. На думку багатьох сучасних дослідників, тубулоінтерстиційна тканина залучається до патологічного процесу раніше клубочкового апарату, у зв'язку з чим відносно збережена клубочкова структура, однак, не забезпечує нормального функціонування нефрону. Останніми роками численними масштабними клініко-морфологічними дослідженнями переконливо доведено, що при гломерулопатіях визначне значення для прогнозу хронічної хвороби нирок має не стільки вираженість гломерулосклерозу, скільки тяжкість тубулоінтерстиційного фіброзу [2, 3].

Отже, своєчасна діагностика тубулоінтерстиційного ураження та дослідження характеру й тяжкості ураження тубулоінтерстиційної тканини мають визначне значення для про-

гнозу швидкості прогресування ниркової недостатності. У зв'язку з цим **метою нашого дослідження** було дослідження механізмів формування тубулоінтерстиційних розладів на початкових етапах розвитку експериментального алоксан-індукованого цукрового діабету.

Матеріал і методи

Дослідження проведені на 20 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів масою 0,18–0,20 кг, яких утримували за ідентичних стандартних умов віварію. Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення 10 тваринам розчину алоксану (Алохан monohydrate, «Acros Organics», Бельгія) у дозі 160 мг/кг маси тіла після попередньої 12-годинної депривації їжі при збереженому доступі до води. Контролем були 10 недіабетичних щурів. Через 10 діб після введення діабетогенної речовини щурів виводили з експерименту. 8 діабетичним щурам (рівень летальності становив 20,0 % – 2 щури) та 10 контрольним тваринам проводили навантаження водогінною водою в об'ємі 5 % від маси тіла, сечу збирали впродовж 2 годин, здійснювали евтаназію шляхом декапітації під легким ефірним знеболюванням. У пробах крові визначали рівень глюкози та враховували в подальшому лише показники щурів зі стійкою гіперглікемією, що сягала понад 7,0 ммоль/л.

Аналізували проби сечі та плазми крові. Оцінювали діяльність судинно-клубочкового апарату, проксимального та дистального каналцевих відділів нефрону кліренс-методом [4, 5]. Після оцінювання водного індукованого 2-годинного діурезу (у мл/100 г маси тіла за 2 години) розраховували швидкість клубочкової фільтрації за кліренсом ендogenous креатиніну [4, 5], для чого концентрацію останнього визначали в реакції з пікриновою кислотою в сечі (за методикою Фоліна) та в плазмі крові (відповідно до методики А.К. Мерзон) [5]. Концентрацію іонів натрію і калію у пробах сечі та плазми крові визначали методом полум'яної фотометрії на «ФПЛ-1» (Україна) із подальшим розрахунком показників екскреції електролітів, інтенсивності їхньої фільтрації, абсолютної та відносної реабсорбції, кліренсу та концентраційного індексу, їхнього проксимального й дистального ниркового транспорту. Для стандартизації показників ниркового транспорту електролітів абсолютні їхні вели-

чини перераховували на 100 мкл клубочково-го фільтрату (КФ) [4, 5].

Для підвищення точності діагностики тубулоінтерстиційного ураження вилучені після декапітації щурів нирки відмивали від домішок крові, їхню середню ділянку розшаровували на 3 частини – кіркову й мозкову речовини та сосочок нирки. Наважки виокремлених шарів ниркової тканини занурювали у 5 мл дистильованої води у флаконах із герметичними пробками, залишали на 24 год у холодильнику при температурі 4 °С для повної екстракції електролітів. Концентрацію іонів натрію та калію в отриманому екстракті відповідної частини ниркової паренхіми визначали методом полум'яної фотометрії та розраховували на 1 г тканини нирок. Обчислювали сосочково-кірковий, сосочково-мозковий та мозково-кірковий концентраційні градієнти іонів натрію та калію, а за їхнім відхиленням оцінювали характер тубулоінтерстиційного синдрому.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали із визначенням середньої величини та стандартних відхилень. Для оцінювання вірогідності різниці між досліджуваними групами застосовували непараметричний ранговий критерій Манна–Уїтні за алгоритмами, що реалізовані в комп'ютерній програмі «Statistica for Windows», «Version 8.0» [6].

Дослідження проводили з дотриманням положень Директиви ЄС № 609 (1986) та наказу МОЗ України від 23.09.09 № 690 «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин».

Результати та їх обговорення

У ході дослідження встановлено, що на 11-й день алоксан-індукованого ЕЦД відбувалось достовірне зменшення вмісту іонів натрію у всіх відділах нирок – на 54,0 % у кірковій речовині нирок, на 14 % – у мозковій, на 57 % – у сосочку нирок (*табл. 1*). Зниження вмісту іонів калію в ниркових структурах алоксан-діабетичних щурів порівняно з показниками контрольної групи виявилось ще більш значущим – на 72 % у кірковій речовині нирок, на 31 % – у мозковій, на 55 % – у нирковому сосочку. Разом з тим натрій-калієвий коефіцієнт достовірно зростав для кіркової та мозкової речовини (на 63,9 та 25,0 % відповідно), демонструючи переважну ретенцію іонів натрію. Крім того,

Таблиця 1. Вміст іонів натрію і калію в різних відділах нирок за 11-денного алоксан-індукованого ЕЦД ($X \pm Sx$)

Показник	Група		p
	контроль (n=10)	11-денний алоксановий ЕЦД (n=8)	
<i>Кіркова речовина нирок</i>			
Натрій, ммоль/1 г тканини	57,26±1,48	26,34±1,74	<0,001
Калій, ммоль/1 г тканини	94,76±2,46	26,45±2,11	<0,001
Натрій-калієвий коефіцієнт, од.	0,61±0,01	1,00±0,02	<0,001
<i>Мозкова речовина нирок</i>			
Натрій, ммоль/1 г тканини	62,40±1,21	53,85±1,93	<0,01
Калій, ммоль/1 г тканини	92,52±1,97	63,73±3,03	<0,001
Натрій-калієвий коефіцієнт, од.	0,68±0,02	0,85±0,03	<0,01
<i>Нирковий сосочок</i>			
Натрій, ммоль/1 г тканини	112,38±1,23	48,91±0,76	<0,001
Калій, ммоль/1 г тканини	123,99±2,61	55,60±2,48	<0,001
Натрій-калієвий коефіцієнт, од.	0,91±0,01	0,89±0,04	>0,7

Примітка. Міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні; p – вірогідність розбіжності показників відносно контролю.

виявлено тенденцію до його зниження для ниркового сосочка.

При цьому за розрахунку концентраційних градієнтів іонів натрію виявлено дворазове зниження сосочково-мозкового градієнта ($p < 0,001$) та дворазове підвищення мозково-кіркового градієнта ($p < 0,001$) за практично незмінного сосочково-кіркового градієнта ($p > 0,3$) при порівнянні з контрольними результатами (рис. 1). З огляду на те що кіркова речовина нирок представлена клубочками і канальцями нефронів, саме з порушенням функції останніх можна пов'язати розвиток натрійурезу за 11-денного ЕЦД.

Водночас достовірно зростання сосочково-кіркового та мозково-кіркового калієвих градієнтів (відповідно у 1,6 разу, $p < 0,001$, та 2,6 разу, $p < 0,001$) зі зменшенням сосочково-мозкового градієнта (у 1,5 разу, $p < 0,001$) (рис. 2), могли б указувати на посилену альдостерон-залежну секрецію іонів калію клітинами дистального сегмента нефрону та кіркового відділу збиральних трубок в обмін на іони натрію, перевантаження якими відбувається через неспроможність проксимальних канальців реабсорбувати його за надміру ультрафільтрату. Разом з тим висловлене припущення потребує функціонального оцінювання транстубу-

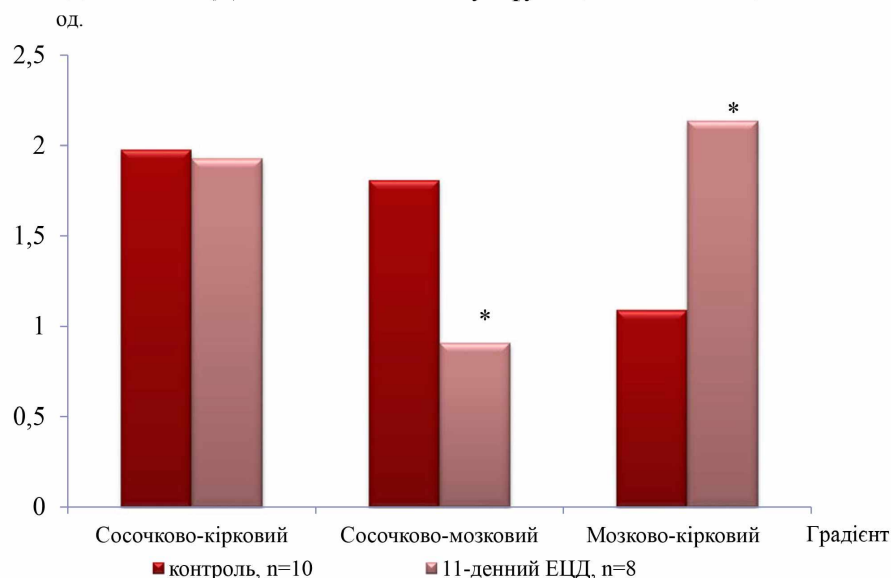


Рис. 1. Концентраційні градієнти іонів натрію (од.) у нирках щурів з 11-денним ЕЦД; * вірогідність розбіжності показників відносно контролю $p < 0,05$; міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні

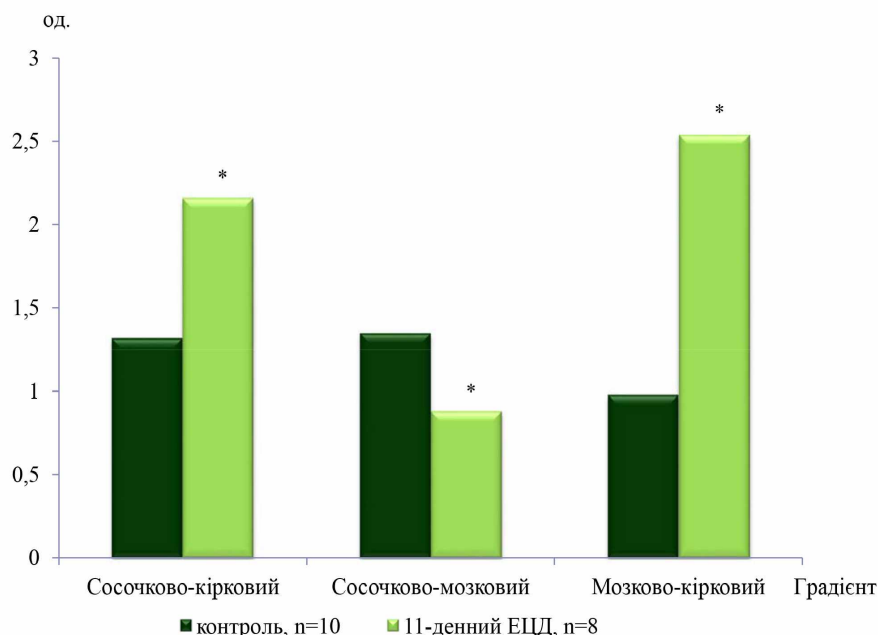


Рис. 2. Концентраційні градієнти іонів калію (од.) у нирках щурів з 11-денним ЕЦД:
* вірогідність розбіжності показників відносно контролю $p < 0,05$; міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтні

лярного транспорту іонів натрію та реабсорбційного потенціалу каналців щодо катіона, адже з огляду на результати обчислення іонних концентраційних градієнтів інтенсифікація натрійурезу є маркером пригнічення каналцевої реабсорбції іонів натрію. Крім того, слід взяти до уваги, що лише близько 10 % іонів натрію всмоктуються в обмін на іони калію, що секретуються до просвіту каналця [7]. З огляду на відомості про те, що профільтрований калій практично повністю всмоктуються у відділах нефрону, котрі передують дистальному звивистому каналцю (значна кількість іонів калію реабсорбується у висхідному відділі петлі Генле і до початкових відділів дистального каналця надходить близько 10 % профільтрованого калію) [7], припускаємо, що посилення калійурезу на 11-й день алоксан-індукованого ЕЦД завдячує функціональній дисфункції проксимального відділу нефрону на цій стадії експерименту.

За результатами функціонального оцінювання тубулярних механізмів іоноурезу встановлено, що збільшена за 11-денного ЕЦД екскреція іонів натрію й калію (у 6,4 і 2,4 разу відповідно) призводила до зростання їхньої концентрації в кінцевій сечі – у 5,5 і 2 разу відповідно, тоді як вищий у 2,8 разу коефіцієнт співвідношення концентрацій зазначених іонів у сечі свідчив про порівняно більш істотні втра-

ти натрію у групі алоксан-діабетичних щурів порівняно з показниками тварин групи контролю (табл. 2).

Властива раннім стадіям діабету гіперфільтрація супроводжується значним збільшенням навантаження на каналцевий апарат нирки [8]. За підвищеного на 46,6 % фільтраційного завантаження нефронів іонами натрію кліренс катіона у 6,8 разу перевищував показник контролю, що, ймовірно, було пов'язано зі зменшенням реабсорбційної здатності каналцевого відділу нефрону: відносна реабсорбція іонів натрію була достовірно меншою за показник інтактних тварин і хоча проксимальна реабсорбція іонів натрію, а також його дистальний транспорт мали тенденцію до зростання (на 48,7 і 13,5 % відповідно), у перерахунку на одиницю діючого нефрону проксимальний та дистальний транспорт іонів натрію виявився меншим за показники контролю (на 0,3 і 20,0 % відповідно), табл. 3.

Неспроможність проксимальних сегментів нефрону адаптуватися до перевантаження ультрафільтратом із високим фільтраційним зарядом натрію спричиняє, ймовірно, надходження до петлі Генле та дистальних сегментів нефрону великих об'ємів внутрішньоканальцевої рідини та натрію, що закономірно викликає збільшення загального обсягу дистальної реабсорбції натрію за механізмом каналцево-ка-

Таблиця 2. Характеристика іоновидільної функції нирок у щурів з 11-денним алоксан-індукованим ЕЦД ($X \pm Sx$)

Показник	Група		p
	контроль (n=10)	11-денний алоксановий діабет (n=8)	
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	0,72±0,05	3,94±0,16	<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль за 2 год	2,09±0,18	13,48±0,76	<0,001
Стандартизована екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,59±0,03	2,78±0,30	<0,001
Фільтраційний заряд натрію, мкмоль/хв	43,39±1,82	63,61±8,08	>0,07
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,960±0,003	99,80±0,03	<0,001
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	10,45±0,52	21,31±1,59	<0,001
Екскреція іонів калію, мкмоль за 2 год	30,34±1,50	72,26±4,95	<0,001
Коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію і калію в сечі, од.	0,070±0,005	0,194±0,019	<0,001

Примітка. Міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні; p – вірогідність розбіжності показників відносно контролю.

Таблиця 3. Характеристика каналцевого транспорту іонів натрію в щурів з 11-денним алоксан-індукованим ЕЦД ($X \pm Sx$)

Показник	Група		p
	контроль (n=10)	11-денний алоксановий діабет (n=8)	
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, ммоль за 2 год	4,85±0,21	7,21±0,95	>0,07
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль за 2 год	357,60±15,10	405,88±36,38	>0,1
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	11,45±0,18	11,48±0,74	>0,5
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл КФ	0,85±0,03	0,68±0,07	<0,05

Примітка. Міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні; p – вірогідність розбіжності показників відносно контролю.

нальцевого балансу, який у той самий час не повністю компенсує фільтраційне перевантаження нефронів катіоном. Незважаючи на великі потужні реабсорбційні можливості каналців щодо іонів натрію, проксимальна реабсорбція катіона кожним окремим нефроном обмежується, викликаючи максимальне напруження каналцево-каналцевого зв'язку і відносно неспроможність дистальних каналців забезпечити збереження в організмі іонів натрію, що уникнули реабсорбції у проксимальних каналцях. Калійурична реакція нирок щурів із 11-денним алоксан-індукованим ЕЦД завдячує своїм розвитком переважанню процесів екскреції іонів калію над їхньою секрецією, що в сукупності зі збільшенням мозково-кіркового та зменшенням сосочково-мозкового калієвих градієнтів вказує на відносну функціональну дисфункцію проксимальних відділів нефрону.

Список літератури

1. Шамхалова М. Ш. Фактори тубулоінтерстиціального поражения почек при сахарном диабете / М. Ш. Шамхалова, К. О. Курумова, М. В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2009. – Т. 12, № 4. – С. 61–65.

Висновки

Зміни концентраційних градієнтів натрію і калію спостерігаються вже на ранніх етапах розвитку алоксан-індукованого експериментального діабету і вказують на ініціацію каналцевих розладів, що супроводжуються посиленням натрійурезу та калійурезу. Незважаючи на регуляторний контроль поворотно-множильної системи нирок і посилення реабсорбції натрію та калію на рівні висхідного відділу петлі Генле, подальше прогресування тубулопатії призводить як до відносної недостатності проксимального й дистального каналців, так і до порушення гормонально-залежної реабсорбції катіонів, пригнічення альдостерон- та вазопресин-залежних механізмів регуляції осмолярності інтерстицію з розвитком тубулоінтерстиційних порушень, що унеможливають адекватне осмотичне концентрування сечі.

2. Бондарь И. А. Тубулоинтерстициальный фиброз при диабетической нефропатии: механизмы развития и подходы к лечению / И. А. Бондарь, В. В. Климонтов // Сахарный диабет. – 2008. – Т. 11, № 2. – С. 11–15.
3. Vallon V. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney / V. Vallon, S. C. Thomson // *Annu. Rev. Physiol.* – 2012. – Vol. 74. – P. 351–375. – DOI : 10.1146/annurev-physiol-020911-153333.
4. Шюк О. Функциональное исследование почек / О. Шюк. – Прага : Авиценум, 1981. – 344 с.
5. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії : навчально-методичний посібник / [В. М. Магалаєс, А. О. Міхеев, Ю. Є. Роговий та ін.]. – Чернівці : Буковинська державна медична академія, 2001. – 42 с.
6. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.
7. Наточин Ю. В. Основы физиологии почки / Ю. В. Наточин. – Л. : Медицина : Ленингр. отд-ние, 1982. – 208 с.
8. Boychuk T. M. Peculiarities of excretory renal function in the early period of alloxan-induced experimental diabetes / T. M. Boychuk, O. A. Olenovych, A. I. Gozhenko // *Вісник морської медицини.* – 2018. – № 3 (80). – С. 102–109. – DOI : <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450849>.

References

1. Shamkhalova M.Sh., Kurumova K.O., Shestakova M.V. (2009). Faktory tubulointerstitsialnogo porazheniia pochek pri sakharnom diabete [Factors of tubulointerstitial lesions in diabetic kidneys]. *Sakharnyi diabet – Diabetes Mellitus*, vol. 12, № 4, pp. 61–65. DOI: 10.14341/2072-0351-5707 [in Russian].
2. Bondar' I.A., Klimontov V.V. (2008). Tubulointerstitsial'nyy fibroz pri diabeticheskoy nefropatii: mekhanizmy razvitiya i podkhody k lecheniyu [Tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy: mechanisms of development and approaches to treatment]. *Sakharnyi diabet – Diabetes Mellitus*, vol. 11, № 2, pp. 11–15. DOI: 10.14341/2072-0351-5752 [in Russian].
3. Vallon V., Thomson S.C. (2012). Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Annu. Rev. Physiol.*, vol. 74, pp. 351–375. DOI: 10.1146/annurev-physiol-020911-153333, PMID: 22335797, PMCID: PMC3807782.
4. Shiuk O. (1981). *Funktionalnoie issledovaniie pochek [Examination of kidney function]*. Prague: Avitsenum, 344 p. [in Russian].
5. Mahaliias V.M., Mikhieiev A.O., Rohovyi Yu. Ye., Shcherbinina A.V., Turchynets T.H., Chipko T.M. (2001). *Suchasni metodyky eksperymentalnykh ta klinichnykh doslidzhen tsentralnoi naukovo-doslidnoi laboratorii Bukovynskoi derzhavnoi medychnoi akademii: navchalno-metodychnyi posibnyk [Modern methods of experimental and clinical research of the central research laboratory of the Bukovina State Medical Academy: training manual]*. Chernivtsi: Bukovynska derzhavna medychna akademiia, 42 p. [in Ukrainian].
6. Rebrova O.Yu. (2002). *Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package]*. Moscow: MediaSfera, 312 p. [in Russian].
7. Natochin Yu.V. (1982). *Osnovy fiziologii pochki [Fundamentals of Kidney Physiology]*. Leningrad: Meditsina: Leningradskoie otdeleniie, 208 p. [in Russian].
8. Boychuk T.M., Olenovych O.A., Gozhenko A.I. (2018). Peculiarities of excretory renal function in the early period of alloxan-induced experimental diabetes. *Visnyk morskoi medytsyny – Herald of Marine Medicine*, № 3 (80), pp. 102–109. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450849>.

О.А. Оленович

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТУБУЛОИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Исследованы тубулоинтерстициальные нарушения при 11-дневном экспериментальном аллоксан-индуцированном сахарном диабете. Пришли к выводу о том, что изменения концентрационных

градиентов ионов натрия и калия происходят уже на ранних этапах развития патологии и указывают на инициацию канальцевых дисфункций, которые сопровождаются усилением натрийуреза и калийуреза. Несмотря на регуляторный контроль противоточно-множительной системы почек и усиление реабсорбции натрия и калия на уровне восходящего отдела петли Генле, дальнейшее прогрессирование тубулопатии приводит как к относительной недостаточности проксимального и дистального канальцев, так и к нарушению гормонально-зависимой реабсорбции катионов, угнетению альдостерон- и вазопрессин-зависимых механизмов регуляции осмолярности интерстиция с развитием тубулоинтерстициальных нарушений, которые исключают адекватное осмотическое концентрирование мочи.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, аллоксан, концентрационные градиенты ионов натрия и калия, тубулоинтерстициальное поражение почек.

O.A. Olenovych

MECHANISMS OF FORMATION OF TUBULOINTERSTITIAL RENAL IMPAIRMENT AT THE INITIAL STAGES OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Tubulointerstitial disorders were studied in 11-day long experimental alloxan-induced diabetes mellitus. We concluded that changes in the concentration gradients of sodium and potassium are already observed at the early stages of pathology and indicate the initiation of tubular dysfunction accompanied by intensification of natriuresis and kaliuresis. Despite regulatory control of the renal countercurrent multiplication system and intensification of sodium and potassium reabsorption at the level of the ascending Henle loop, further progression of tubulopathy, in addition to the relative insufficiency of the proximal and distal tubules, will result in the disturbance of hormonal-dependent reabsorption of cations, inhibition of aldosterone- and vasopressin-dependent mechanisms of interstitial osmolarity regulation with the development of tubulointerstitial disorders that unable adequate osmotic concentration of urine.

Keywords: experimental diabetes mellitus, alloxan, concentration gradient of sodium and potassium, tubulointerstitial renal impairment.

Надійшла 27.10.20

Відомості про автора

Оленович Ольга Анатоліївна – кандидат медичних наук, доцент кафедри клінічної імунології, алергології та ендокринології Буковинського державного медичного університету.

Адреса: Україна, 58002, м. Чернівці, Театральна пл., 2, Буковинський державний медичний університет.

Тел.: +38(097)784-48-69.

E-mail: olenovych.olga@bsmu.edu.ua.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9824-8885>.