

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ У СВИНОК ЗАЛЕЖНО ВІД ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ

С. О. Усенко, А. М. Шостя, В. Г. Слинько, О. М. Бондаренко, В. І. Березницький, Б. С. Шаферівський, Є. В. Чухліб,

Полтавська державна аграрна академія, вул. Г. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003, Україна

Експериментальні дані багатьох учених свідчать про провідне значення процесів пероксидного окиснення в забезпеченні рухливості, виживаності спермій, дозрівання яйцеклітин та заплідненні. Це вимагає розроблення програм антиоксидантного живлення відповідно до фізіологічного стану тварин на основі глибокого розуміння механізму їх специфічної дії. Метою досліджень було встановити особливості перебігу процесів пероксидного окиснення у свинок залежно від фізіологічного стану. У дослідках за принципом аналогів використано 5 клінічно здорових свинок української степової білої породи. Кров відбирали в різні періоди відтворювального циклу: лютеальна фаза, еструс, на 15, 20, 30, 60, 90, 104, 113 доби вагітності та через 12 годин після опоросу. Інтенсивність перебігу процесів пероксидації у крові досліджували за активністю ксантиноксидази, концентрацією дієнових кон'югатів, вмістом ТБК-активних сполук. Оцінювали рівень антиоксидантного захисту за активністю супероксиддисмутази, активністю каталази, вмістом відновленого глутатіону, аскорбінової і дегідроаскорбінової кислот, вітаміну А та вітаміну Е. Встановлено, що у свинок у період еструсу в крові пришивиджуються процеси пероксидного окиснення: зростає активність ксантиноксидази, підвищується вміст дієнових кон'югатів в 1,6 раза та ТБК-активних сполук в 1,9 раза ($p < 0,05$). Ці зміни супроводжуються зниженням резистентності еритроцитів до пероксидного гемолізу на 64 % та зростанням рівня антиоксидантного захисту – активності супероксиддисмутази, кількості вітаміну А ($p < 0,05$) і вітаміну Е. Встановлено, що у свинок перед пологам спостерігалась інтенсифікація пероксидації, за рахунок збільшення активності ензимів та зменшення каталази. Ці зміни відбуваються на тлі прискорення процесу пероксидного окиснення – збільшення концентрації дієнових кон'югатів ($p < 0,05$), ТБК-активних комплексів ($p < 0,01$) та зниженням кількості відновленого глутатіону, вітаміну А та вітаміну Е ($p < 0,01$). Особливості перебігу процесів пероксидації у крові свинок визначається періодами статевого циклу та поросністю.

Ключові слова: свинки, статевий цикл, кров, пероксидне окиснення, антиоксиданти, поросність.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРОКСИДНОГО ГОМЕОСТАЗА У СВИНОК В ТЕЧЕНИИ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ЦИКЛА

С. А. Усенко, А. М. Шостя, В. Г. Слинько, Е. Н. Бондаренко, В. И. Березницкий, Б. С. Шаферивский, Е. В. Чухлеб,

Полтавская государственная аграрная академия, ул. Г. Сковороды, 1/3, г. Полтава, 36003, Украина

Представлены результаты исследований об особенностях протекания процессов пероксидации у свинок. Выявлено, что в крови свинок в период эструса ускоряются процессы перекисного окисления: увеличивается активность ксантиноксидазы, содержание диеновых конъюгатов и ТБК-активных соединений. Эти изменения сопровождаются снижением резистентности эритроцитов к перекисному гемолизу и ростом уровня антиоксидантной защиты – активности супероксиддисмутаза, витамина А и витамина Е. Установлено, что у свинок перед опоросом наблюдается интенсификация пероксидации, а именно за счет увеличения активности ксантиноксидазы, супероксиддисмутаза и уменьшения каталазы. Эти изменения происходят на фоне ускорения процесса перекисного окисления – увеличение концентрации диеновых конъюгатов ($p < 0,05$), ТБК-активных комплексов ($p < 0,01$) и снижением количества восстановленного глутатиона, витамина А и витамина Е ($p < 0,01$). Динамика особенности формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в крови свинок определяется периодами полового цикла и беременности.

Ключевые слова: свинки, половой цикл, кровь, перекисное окисление, антиоксиданты, супоросность.

Вступ

Внутрішньоутробний розвиток тварин є одним із важливих періодів в їх існуванні. Фізіологічні перебудови в організмі матері, пов'язані з вагітністю, вимагають значних змін метаболічних процесів. Надходжен-

ня поживних речовин до ембріону великою мірою залежить як від його біологічної цінності, так і ступеня зв'язку між ним і матір'ю, особливо після імплантації і плацентації. Утворення повноцінної плаценти дає змогу забезпечувати необхідні умови для розвитку плода в материнському організмі.

Останнім часом як модельних тварин для дослідження процесів репродукції використовують організм свині через істотну подібність до людського за багатьма анатомо-фізіологічними параметрами [19]. Зокрема наявність гістотрофного типу живлення в ембріонів, що на ранніх стадіях вагітності притаманне людині та тварин із різним геномом, зберігається у свиней майже до кінця ембріогенезу. Тому, пізнаючи зміни, які відбуваються у крові та слизовій оболонці рогів матки протягом вагітності, можна судити про рівень метаболізму і характер взаємозв'язку в системі «мати-плацента-плід» [13]. Це дозволяє виявити загальні закономірності в системі «мати-плацента-плід».

Доведено, що у критичні періоди ембріонального розвитку процеси перекисації посилюються, в результаті чутливість зародка до пошкоджень факторами підвищується, а захисні можливості його знижуються [16]. Незважаючи на те, що в кожного виду організмів існують лише їм властиві критичні періоди, все ж для всіх хребетних, і свині зокрема, вони є загальними. Вивчення таких закономірностей можна успішно використовувати в експериментальній біології і, ґрунтуючись на цьому, розробити і практично реалізувати ефективні методи зниження ембріональної смертності. При цьому однією з важливих характерних особливостей перебігу вагітності в організмі самок різних видів тварин і людини є посилення метаболічних процесів перед пологами, що вказує на важливість дослідження процесів перекисації і корекції їх в цей період [8].

Численними експериментами доведено, що більшість фізіологічних функцій в організмі тварин відбуваються за участі активних форм кисню, кількість яких перебуває під динамічним контролем прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Саме радикалам кисню належить провідна роль у забезпеченні нормальної роботи клітинних мембран, міоцитів судин, відповідного рівня імунітету, розвитку стресу, старіння та настання апоптозу [14, 17].

Найбільш чутливими до інтенсивності перебігу процесів перекисації в організмі тварин є яйцеклітини і спермії [18]. Саме активним формам кисню належить провідна роль у забезпеченні формування і дозрівання цих гамет шляхом ушкодження ДНК – однієї з основних причин загибелі зигот, ембріонів та потомства [10, 11].

Експериментальні дані свідчать, що після настання вагітності материнський організм перебуває під впливом оксидативного стресу, що може супроводжуватися порушенням процесів розвитку плаценти, плодів та передчасними пологами [5, 7, 15]. Це вимагає розроблення програм антиоксидантного живлення на основі глибокого розуміння механізму і їх специфічної дії [12].

У цьому напрямі перспективними є дослідження процесів перекисації ліпідів у критичні періоди ембріонального розвитку, що дозволить глибше зрозуміти важливі процеси репродукції в людини і тварин для розроблення методів регуляції їх відтворювальної здатності. Це й зумовлює науково-практичну актуальність проведення цих досліджень.

Метою досліджень було встановити особливості перебігу перекисного окиснення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у свинок залежно від фізіологічного стану.

Для досягнення поставленої мети необхідно було розв'язати такі *завдання*: визначити інтенсивність перебігу процесів перекисації ліпідів у свинок у різні періоди статевих циклу і поросності; визначити силу системи антиоксидантного захисту у свинок залежно від фізіологічного стану.

Матеріал і методи досліджень

У дослідках за принципом аналогів використано 5 клінічно здорових свинок української степової білої породи віком 8 місяців та масою тіла 125–130 кг. У свинок проводили забір крові натще в різні періоди відтворювального циклу: лютеальна фаза, еструс, на 15, 20, 30, 60, 90, 104, 113 доби вагітності та через 12 годин після опоросу. Інтенсивність перебігу процесів перекисації ліпідів у крові досліджували за активністю ксантиноксидази (КСО) [2], концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) [6], вмістом ТБК-активних сполук [6]. Оцінювали рівень антиоксидантного захисту за активністю супероксиддисмутази (СОД) [6], активністю каталази (КТ) [1], вмістом відновленого глутатіону [6], аскорбінової і дегідроаскорбінової кислот (АК) [6], вмістом вітаміну А та концентрацією вітаміну Е [4].

Результати досліджень та їх обговорення

Дані експерименту свідчать, що у крові циклюючих свинок у фазі еструса порівняно із лютеальною, спостерігається істотна перебудова метаболічних процесів у напрямі прискорення перебігу перекисного окиснення. Це підтверджується підвищенням активності прооксидантного ензиму – КСО

СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО. ТВАРИННИЦТВО

на 14,3 %, що істотно прискорило гемоліз еритроцитів на 63,9 %. Такі зміни супроводжуються збільшенням вмісту ДК у 1,6 та ТБК-активних комплексів 1,9 ($p<0,05$) раза (табл). При цьому спостерігалось прискорення функціональної активності антиоксидантних ензимів: СОД на 31,3 % та зниження КТ – 55,3 %.

Стан ПАГ у крові свинок української степової білої породи впродовж відтворювального циклу, $M \pm m$ ($n=10$)

Показники ПАГ	Фази відтворювального циклу								Через 12 годин після пологів
	Лютеальна	Еструс	Доби вагітності						
			15-а	30-а	60-а	90-а	104-а	113-а	
Перекисна резистентність еритроцитів, %	7,08 ±1,43	11,61 ±2,38	10,52 ±2,09	9,32 ±2,42	8,14 ±1,51	7,41 ±1,49	12,19 ±2,43	14,28 ±3,12	13,94* ±2,64
Ксантинооксидаза, мккат /сек·л	29,11 ±3,504	33,28 ±3,493	37,84 ±3,891	34,13 ±2,852	31,13 ±4,577	33,49 ±4,603	38,12 ±4,573	44,38 ±5,901	35,56 ±4,853
Супероксиддисмутаза, од.акт/мл	0,48 ±0,11	0,63 ±0,13	0,56 ±0,12	0,72 ±0,15	0,49 ±0,11	0,34 ±0,08	0,69 ±0,14	0,85 ±0,28	0,72 ±0,15
Каталаза, H ₂ O ₂ /хв·л	1,876 ±0,342	0,839 ±0,072	2,155 ±0,101	1,538 ±0,13	1,621 ±0,17	1,811 ±0,094	1,98 ±0,091	1,28 ±0,112	1,964 ±0,135
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	0,475 ±0,1	0,396 ±0,068	0,349 ±0,077	0,369 ±0,088	0,324 ±0,07	0,279 ±0,075	0,245 ±0,067	0,233 ±0,064	0,351 ±0,083
Аскорбінова кислота, мкмоль/л	11,35 ±1,91	14,54 ±2,52	9,17 ±1,72	8,51 ±1,57	12,24 ±2,03	14,43± 2,11	8,13 ±1,69	7,67 ±1,29	6,61 ±1,24
Дегідроаскорбінова кислота, мкмоль/л	9,33 ±1,64	18,26* ±2,26	13,83± 1,79	9,26 ±1,77	13,85 ±2,35	12,14 ±1,91	9,87 ±1,58	14,11± 2,17	9,86 ±1,77
Вітамін А, мкмоль/л	1,05 ±0,19	1,84* ±0,28	1,37 ±0,23	1,09 ±0,26	1,94* ±0,29	2,86** ±0,38	1,32 ±0,25	1,21 ±0,36	0,85 ±0,19
Вітамін Е, мкмоль/л	1,38 ±0,22	2,16 ±0,29	1,54 ±0,27	0,96 ±0,19	0,77 ±0,13	0,62* ±0,11	0,442** ±0,09	0,399** ±0,09	0,278*** ±0,07
Дієнові кон'югати, ммоль/л	1,03 ±0,19	1,68 ±0,27	2,37 ±0,39	2,55 ±0,43	2,08 ±0,52	2,21 ±0,48	1,87 ±0,23	2,63* ±0,31	2,84* ±0,39
ТБК-активні комплекси, мкмоль/л	6,83 ±1,434	13,2* ±2,427	11,28 ±2,811	14,36* ±2,344	9,61 ±1,711	10,86 ±1,77	14,92 ±3,42	16,68**± 2,19	12,78 ±1,87
ТБК-активні комплекси після інкубації, мкмоль/л	10,8 ±2,787	15,08 ±3,117	13,17 ±2,95	17,18 ±3,165	13,25 ±2,767	14,86 ±2,71	16,67 ±2,75	18,17 ±2,95	13,97 ±2,145

Примітка: *- $p<0,05$; **- $p<0,01$; ***- $p<0,001$ порівняно з показниками лютеальної фази.

Саме в цей період виявлено суттєве використання відновленого глутатіону та аскорбінової кислоти, а також надходження у кров вітаміну А та вітаміну Е.

Перші 15 діб розвитку вагітності характеризувалися подальшим напруженням перебігом процесів пероксидного окиснення, що проявлялось в активізації ензимів: КСО – 29,9 % і СОД – 16,8 %, збільшенні концентрації ДК – 130,1 %, ТБК-активних комплексів на 65,1%, а також прискорені використання низькомолекулярних антиоксидантів – зниженні вмісту відновленого глутатіону та аскорбінової кислоти відповідно на 26,5 % та 19,2 % порівняно із лютеальною фазою.

По закінченні першого місяця вагітності інтенсивність перебігу процесів пероксидного окиснення досягає найбільшої інтенсивності, що підтверджується високим рівнем функціональної активності прооксидантного ензиму, генератора активних форм кисню – КСО та максимальним вмістом вторинних продуктів пероксидації – ТБК – активних комплексів ($p<0,05$). Це супроводжується подальшим зростанням рівня СОД

та сталим зниженням вмісту відновленого глутатіону, аскорбінової кислоти, вітамінів А та вітаміну Е. Ця особливість перебігу процесів пероксидації підтверджується дослідженнями [9].

Упродовж другого місяця вагітності в організмі свинок спостерігалось зниження інтенсивності пероксидації ліпідів – зменшення активності КСО на 8,8 %, вмісту ДК – 18,4 і ТБК-комплексів – 33,1 %, а також підвищення стійкості еритроцитів до пероксидного гемолізу – 12,7 %. У результаті встановлено підвищення ємності системи антиоксидантного захисту за рахунок зростання активності КТ на 5,4 %, та вітаміну А – 77,9 % ($p < 0,05$).

По закінченні 90-ї доби поросності свинок відбувалося незначне підвищення активності КСО, каталази та кількості аскорбінової кислоти. При цьому виявлено істотне зниження вітаміну Е – 1,2 ($p < 0,05$) та підвищення вітаміну А в 1,5 раза ($p < 0,01$), що очевидно пов'язано із зростанням депонуєної функції печінки плодів до цих речовин.

У свинок перед пологам спостерігалась інтенсифікація пероксидації ліпідів за рахунок збільшення активності КСО і СОД, що супроводжувалось накопиченням вмісту дегідроаскорбінової кислоти, дієнових кон'югатів ($p < 0,05$) та ТБК-активних комплексів ($p < 0,01$), а також зниженням концентрації низькомолекулярних антиоксидантів: відновленого глутатіону та вітаміну Е ($p < 0,01$) відносно лютеальної фази. Очевидно, такі метаболічні зміни спричинили зниження рівня стійкості еритроцитів до пероксидного гемолізу.

У післяпологовий період відмічено зміну індикативних показників інтенсивності пероксидації ліпідів: підвищення ДК у 1,1 ($p < 0,05$) і зниження ТБК-активних комплексів у 1,3 раза. Встановлено підвищення рівня функціональної активності КТ на 53,4 %. Такі зміни відбувались на тлі зменшення концентрації вітаміну А на 29,7 % та вітаміну Е – 30,3 % ($p < 0,001$), що є свідченням їх провідної ролі в забезпеченні адаптаційних процесів у післяпологовий період для свиноматок та поросят.

Отримані матеріали досліджень свідчать про те, що у крові свинок протягом відтворювального циклу найбільш лабільними серед ензимів є КСО і СОД, де максимальні значення виявлено перед пологам, а також низькомолекулярні антиоксиданти вітамін А та вітамін Е у післяпологовий період порівняно із лютеальною фазою.

Встановлені особливості перебігу процесів пероксидації і формування системи антиоксидантного захисту у крові свинок загалом мають близьку динаміку до виявлених у міометрії пероксидації в міометрії та ендометрії вагітних свиноматок [3]. Розкриті закономірності прискорення цих процесів збігаються із провідною роллю активних форм оксигену у забезпеченням запліднення, імплантації і плацентації ембріонів, захистом плодів від окислювального стресу, підготовкою та проведенням пологів.

Виявлені зміни в інтенсивності протікання процесів пероксидації у свинок залежно від періоду відтворювального циклу цілком підтверджують гіпотезу про циклічну лабільність гомеостазу метаболічних процесів у їх організмі, а саме певними періодичними коливаннями, що зумовлені зміною їх фізіологічного стану, які спрямовані на підтримання фізіологічної норми перебігу процесів пероксидації [5].

Висновки

Отже, за результатами досліджень встановлено, що у крові свинок у період еструсу прискорюються процеси пероксидного окиснення: зростає активність ксантиноксидази, підвищується вміст дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук ($p < 0,05$). Ці зміни супроводжуються зниженням резистентності еритроцитів до пероксидного гемолізу на 63,9 % та зростанням рівня антиоксидантного захисту ($p < 0,05$) – активності супероксиддисмутази на 31,3 %, вітаміну А – 75,2 % і вітаміну Е – 56,5 %. З'ясовано, що у свинок перед пологам спостерігалась інтенсифікація процесів пероксидації, а саме за рахунок збільшення активності КСО і СОД, а також збільшення концентрації дієнових кон'югатів ($p < 0,05$) та ТБК-активних комплексів ($p < 0,01$), та зниження вмісту вітаміну Е ($p < 0,01$).

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні ефективного методу регуляції статевих циклу та програм направленої живлення свинок, залежно від фізіологічного стану для оптимізації росту і розвитку ембріонів у критичні періоди.

References

1. Velychko, A. K., Solovev, V. B., & Henhyn, T. (2009). Metody laboratornogo opredeleniya obshej perekisnoj razrushayushej aktivnosti fermentov rastenij. *Vestnik. Penzenskogo gos. ped. Universiteta*, 14 (18), 44–48. [in Russian].
2. Kiselova, I. K., Maidaniuk, A. V., & Imedadze, S. P. (2005). Vyznachennia aktyvnosti ksantynoksydaznoi aktyvnosti reaktsii tymusa shchuriv. *Visnyk KNU im. Tarasa Shevchenka*, (45–46), 28.

3. Kuzmenko, L. M., Polishchuk, A. A., Usenko, S. O., Shostya, A. M., Stoyanovskii, V. G., Karpovskii, V. I., & Bilash, S. M. (2018). Prooksydantno-antioksidantnyi Hgomeostaz u tkaninakh matky zalezno vid periodyv vidtvoruvalnogo tsiklu. *Svit medicyny i biology*, 14 (64), 198–203. doi:10.26724/2079-8334-2018-2-64-198-203 [in Ukrainian].
4. Rybalko, V. P. (Ed.). (2005). *Suchasni metodyky doslidzhen u svynarstvi*. Poltava [in Ukrainian].
5. Kovalenko, V. F. (2012). *Fiziologicheskie aspekty metabolizma v sisteme mat-placenta-plod svini: monografiya*. Poltava [in Russian].
6. Shabunyn, S. V. (2010). *Metodycheskyye polozheniya po yzucheniyu protsessov svobodnoradykalnoho okysleniya y systemy antyoksydantnoi zashchyty orhanyzma*. Voronezh [in Russian].
7. Al-Gubory, K. H., Faure, P., & Garrel, C. (2017). Different enzymatic antioxidative pathways operate within the sheep caruncular and intercaruncular endometrium throughout the estrous cycle and early pregnancy. *Theriogenology*, 99, 111–118. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.05.017.
8. Atiba, A. S., Niran-Atiba, T. A., Akindele, R. A., Jimoh, A. K., Oparinde, D. P., Dudyemi, B. M., & Ghazali, M. S. (2013). Effect of Weight Gained In Pregnancy on Lipid Peroxidation Product. *Journal of Asian Scientific Research*, 3 (2), 122–127.
9. Bassi, R., Kaur, M., & Sharma, S. (2011). Study of Changes in Lipid Profile, Lipid Peroxidation and Superoxide Dismutase during Normal Pregnancy. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1 (3), 249–254.
10. Chen, H., Liao, S.-B., Cheung, M. P. L., Chow, P. H., Cheung, A. L. M., & Wai, S. O. (2012). Effects of sperm DNA damage on the levels of RAD51 and p53 proteins in zygotes and 2-cell embryos sired by golden hamsters without the major accessory sex glands. *Free Radical Biology and Medicine*, 53 (4), 885–892. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.06.007.
11. Domínguez-Perles, R., Gil-Izquierdo, A., Ferreres, F., & Medina, S. (2019). Update on oxidative stress and inflammation in pregnant women, unborn children (nasciturus), and newborns – Nutritional and dietary effects. *Free Radical Biology and Medicine*. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.013.
12. Duhig, K., Chappell, L. C., & Shennan, A. H. (2016). Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstetric Medicine*, 9 (3), 113–116. doi:10.1177/1753495x16648495.
13. Lunney, J. K. (2007). Advances in Swine Biomedical Model Genomics. *International Journal of Biological Sciences*, 179–184. doi:10.7150/ijbs.3.179.
14. Marchetti, P., & Marchetti, C. (2009). Apoptose des spermatozoïdes : mythe ou réalité ? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 37 (6), 562–569. doi:10.1016/j.gyobfe.2009.04.007.
15. Ogbodo, S., Okaka, A., & Nwagha, U. (2014). Parity may determine levels of some antioxidant minerals in pregnancy: An experience from rural South-Eastern Nigeria. *Journal of Basic and Clinical Reproductive Sciences*, 3 (1), 27. doi:10.4103/2278-960x.129275.
16. Patil, S. B., Kodliwadmth, M. V., & Kodliwadmth, S. M. (2006). Lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidants in normal pregnancy. *J Obstet Gynecol India*, 5, 399–401.
17. Pomatto, L. C. D., & Davies, K. J. A. (2018). Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 420–430. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.016.
18. Purdey, M. S., Connaughton, H. S., Whiting, S., Schartner, E. P., Monro, T. M., Thompson, J. G., Aitken, R. J., & Abell, A. D. (2015). Boronate probes for the detection of hydrogen peroxide release from human spermatozoa. *Free Radical Biology and Medicine*, 81, 69–76. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.01.015.
19. Swindle, M. M., Makin, A., Herron, A. J., Clubb, F. J., & Frazier, K. S. (2011). Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Veterinary Pathology*, 49 (2), 344–356. doi:10.1177/0300985811402846.

Стаття надійшла до редакції 24.05.2019 р.

Бібліографічний опис для цитування:

Усенко С. О., Шостя А. М., Слинько В. Г., Бондаренко О. М., Березницький В. І., Шаферівський Б. С., Чухліб Є. В. Особливості перебігу процесів пероксидного окиснення у свинок залежно від фізіологічного стану. *Вісник ПДАА*. 2019. № 2. С. 92–97.

© Усенко Світлана Олексіївна, Шостя Анатолій Михайлович, Слинько Віктор Григорович, Бондаренко Олена Миколаївна, Березницький Віктор Іванович, Шаферівський Богдан Сергійович, Чухліб Євген Володимирович. 2019