УДК 616.34/.35-006.6-085.277.3:577.1

ВЛИЯНИЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОИММУНОТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

[1]Набатова О.С., [1]Кит О.И., [1]Горошинская И.А., [2]Павленко С.Г., [1]Сурикова Е.И., [1]Нистратова О.В.

[1]ФБГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com;
[2]НОЧУ ВПО «Кубанский медицинский институт» Минобразования и науки России, Краснодар, e-mail: drpaulson@mail.ru

Проведено комплексное лечение 50 больных колоректальным раком, включающее неоадъювантную полихимиотерапию (ПХТ) по схеме: оксалиплатин, 5-фторурацил, лейковорин дополнительно с препаратами, обладающими иммуномодулирующими (галавит) и антиоксидантными (мексидол) свойствами, и последующую радикальную операцию. Отмечено усиление свободнорадикальных процессов перекисного окисления липидов, что подтверждается увеличением интенсивности хемилюминесценции и накоплением молекулярного продукта малонового диальдегида на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов первой линии защиты. По окончании курса ПХТ наблюдалось резкое увеличение интенсивности хемилюминесценции, содержание малонового диальдегида в эритроцитах снизилось, а в плазме – выросло, активность супероксиддисмутазы и церулоплазмина была снижена, активность каталазы в эритроцитах превысила фоновые значения, а в плазме достоверно не изменялась. В послеоперационном периоде у обследованных пациентов наблюдалась частичная или полная нормализация всех компонентов первой линии антиоксидантной защиты и системы глутатиона.

Ключевые слова: колоректальный рак, полихимиотерапия, антиоксидантная защита, глутатион, глутатион-зависимые ферменты

INFLUENCE NEOADJUVANT POLICHEMOIMMUNOTHERAPY AT PARAMETERS OF ANTIOXIDANT DEFENSE IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

[1]Nabatova O.S., [1]Kit O.I., [1]Goroshinskaya I.A., [2]Pavlenko S.G., [1]Surikova E.I., [1]Nistratova O.V.

[1]Federal State budgetary institution «Rostov Scientific Research Institute of Oncology», Rostov-on-Don, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com;
[2]Private Educational Institution of Higher Education, Krasnodar, e-mail: drpaulson@mail.ru

The complex treatment of patients with colorectal cancer, including neoadjuvant polychemotherapy under the scheme: oxaliplatin with 5-fluorouracil, leucovorin additionally with drugs that have immunomodulatory (Galavit), and antioxidant (Mexidol) properties, and the subsequent radical operation. The marked intensification of free radical processes of lipid peroxidation, which is confirmed by the increasing intensity of chemiluminescence and accumulation of molecular product malondialdehyde on the background of the decreased activity of antioxidant enzymes first line of defense. Upon termination of a course of polychemotherapy has seen a sharp increase in the intensity of chemiluminescence, malondialdehyde content in erythrocytes decreased and plasma – rose, superoxide dismutase activity and ceruloplasmin were reduced, the activity of catalase in erythrocytes exceeded background, and in plasma was not significantly changed. In the postoperative period of studied patients partial or full normalization of all components of the first line of antioxidant protection and system of glutathione was observed.

Keywords: colorectal cancer, polychemotherapy, immunotherapy, antioxidant defense, glutathione, glutathione-dependent enzymes

В последние годы отмечается тенденция к неуклонному росту онкологической заболеваемости и, в частности, колоректальным раком (КРР), которая за последние 5 лет выросла на 12%. Доля КРР в структуре злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в Российской Федерации достигла 42%. В 2007 году стандартизованный показатель заболеваемости составил 13,05 для рака ободочной кишки и 10,43 – для рака прямой кишки на 100 тысяч населения [2]. Рост заболеваемости отмечается практически во всех развитых странах мира [10]. Хирургический метод лечения больных КРР в настоящее время с успехом дополняется лучевым и химиотерапевтическим методами, однако они чреваты серьезными гематологическими и негематологическими осложнениями.

Для понимания изменений, происходящих в организме-опухоленосителе под влиянием проводимого лечения, помимо оценки клинических и морфологических характеристик терапевтического патоморфоза, важную информацию может дать изучение метаболических параметров гомеостаза. Известно, что при развитии злокачественного процесса в организме происходят неспецифические изменения окислительного метаболизма. Активация

свободнорадикальных процессов, нерегулируемая антиоксидантной системой, способствует повреждению макромолекул, что приводит к хромосомной нестабильности, генетическим мутациям и в конечном итоге к возникновению и промоции ракового процесса [8; 9]. При этом несомненна роль системного истощения антиоксидантных ферментов, контролирующих концентрацию активных форм кислорода и соответственно их участие в регуляции клеточных процессов, связанных с прогрессией опухоли и метастазированием [5; 7]. В последнее время много внимания уделяется возможности использования редокс-модулирующих терапевтических стратегий для избирательной элиминации злокачественных клеток и преодоления лекарственной и радиорезистентности [6].

В связи с важностью свободнорадикальных процессов в патогенезе онкологической патологии и с целью редукции осложнений химиотерапии в комплексном лечении больных КРР нами применен метод курсового неоадъювантного внутривенного введения цитостатиков, основанный на лимфовенозном застое, создаваемом в нижней конечности, в сочетании с иммуномодулятором галавит и антиоксидантом мексидол [3] и изучены некоторые биохимические показатели крови этих пациентов.

Материалы и методы исследования

50 больным с диагностированным раком прямой кишки на фоне лечения оксалиплатином проводили курсовое (5-дневное) неоадъювантное введение 5-фторурацила и лейковорина в малую подкожную вену голени при создании условия лимфовенозного застоя. Дополнительно применяли иммуномодулятор галавит и антиоксидант мексидол. Мужчин было 36, женщин – 14. Средний возраст больных составил 73,5 ± 0,5 лет. По системе TNM больные имели местно-распространенную опухоль – $T_{3\text{-}4}N_{0\text{-}1}M_0$. Гистотип опухоли был представлен аденокарциномой. После курса ПХТ спустя 7–10 дней больные подверглись радикальным операциям. Выполнялись левосторонняя гемиколэктомия (7), резекция сигмовидной кишки (12), передняя резекция прямой кишки (25), обструктивная резекция прямой кишки (3) и брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки (3).

Для оценки влияния разработанного метода ПХТ на состояние окислительного метаболизма у 12 больных раком прямой кишки и 25 человек без онкологической патологии и заболеваний желудочно-кишечного тракта, сопоставимых по возрасту (составивших контрольную группу), был исследован ряд показателей, характеризующих интенсивность свободнорадикальных процессов и функционирование антиоксидантной системы крови. Об интенсивности радикалообразования в плазме крови больных судили по светосумме быстрой вспышки перекись-индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), отражающей содержание в системе супероксид-анион радикала и гидроксильного радикала. Интенсивность липопероксидации оценивали спектрофотометрическим методом по накоплению в плазме крови продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных соединений) в пересчете на концентрацию малонового диальдегида (МДА), как наиболее изученного продукта перекисного окисления липидов. Для оценки состояния ферментативного звена антиоксидантной системы в 1% гемолизатах эритроцитов определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионтрансферазы (ГТ), глутатион-редуктазы (ГР) и активность каталазы в плазме крови общепринятыми спектрофотометрическими методами [1]. Изучали также компоненты неферментативного звена антиоксидантной системы – оксидазную активность церулоплазмина в плазме крови и содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах крови. Оксидазную активность церулоплазмина определяли колориметрическим методом, основанным на окислении n-фенилендиамина церулоплазмином [4]. Содержание восстановленного глутатиона определяли по методу Арутюняна А.В. и соавт. (2000) [1]. Все показатели были исследованы в динамике проводимого лечения четырехкратно: до начала лечения (фон), перед операцией, после радикальной операции на 3-и и на 7–8 сутки. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 6.0». Распределение данных в рядах оценивали по критерию Шапиро – Уилкса. Для оценки значимости различий использовали как параметрические (t-критерий Стьюдента), так и непараметрические критерии (критерии Вилкоксона, Манна – Уитни). Наблюдаемые различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ и имеющими тенденцию к достоверности при $0,05 < P < 0,1$.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение показателей СРО липидов у больных КРР выявило как более чем двукратное увеличение интенсивности хемилюминесценции (на 110,8%), так и повышение содержания вторичного молекулярного продукта ПОЛ – малонового диальдегида на 50,0% в эритроцитах и на 213,7% в плазме крови по сравнению с уровнем в контрольной группе. Отмечено снижение активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты в эритроцитах (СОД – на 18,4%, каталазы – на 14,4%) и активности основного антиоксидантного белка плазмы крови – церулоплазмина (на 15,7%). Это сопровождалось увеличением активности глутатионпероксидазы на 91,3% и тенденцией к увеличению активности глутатионтрансферазы на 10,4% (табл. 1 и 2). Увеличение активности глутатионзависимых ферментов, относящихся ко второй линии антиоксидантной защиты, возможно, носило компенсаторный характер.

По окончании курса ПХТ наблюдалось резкое увеличение интенсивности хемилюминесценции – на 103,9% относительно фона, и ее значения превысили уровень контрольной группы на 329,7%. Содер-

жание МДА в эритроцитах снизилось на 29,8% относительно фона и достоверно не отличалось от контроля, а содержание МДА в плазме выросло в еще большей степени – на 28,7% относительно фона и на 303,9% относительно уровня в группе здоровых людей. Активности СОД и церулоплазмина были снижены относительно уровня в контроле на 23,7 и 38,5% соответственно, относительно фона снижение активности церулоплазмина составляло 27,0%, а для СОД не было статистически значимым. Активность каталазы в эритроцитах превысила фоновые значения на 36,6% и уровень здоровых людей на 16,9%, а в плазме достоверно не изменялась (табл. 1).

Таблица 1

Интенсивность ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в крови больных КРР, *(M ± m)*

Группы	Интенсивность хемилюминесценции плазмы, имп. за 6 с	МДА в эритроцитах, нМ/мл 1% гемолизата	МДА в плазме, нМ/мл	Активность ферментов			Активность церулоплазмина, мкМ/л плазмы
				Супероксиддисмутаза, усл. ед./мг Hb	Каталаза эритроцитов, мкМ H_2O_2/мин·мг Hb	Каталаза плазмы, мкМ H_2O_2/мин·мл	
Контрольная группа, n = 18–25	3141,4 ± 213,5 n = 13	567,1 ± 47,8 n = 17	222,2 ± 34,2 n = 18	507,35 ± 18,85 n = 25	128,22 ± 3,82 n = 25	35,17 ± 1,96 n = 23	1,295 ± 0,062 n = 19
До лечения, n = 12	6621,4 ± 576,0 p < 0,001	850,9 ± 112,0 p < 0,02	697,1 ± 47,5 p < 0,001	413,87 ± 40,97 p < 0,05	109,78 ± 4,25 p < 0,01	39,73 ± 1,37 p > 0,1	1,092 ± 0,068 p < 0,05
После лечения (перед операцией), n = 12	13499,2 ± 2515,0 p < 0,001 p_1 < 0,05	597,7 ± 32,1 p > 0,1 p_1 < 0,05	897,4 ± 63,0 p < 0,001 p_1 < 0,02	386,97 ± 29,04 p < 0,01 p_1 > 0,1	149,94 ± 8,07 p < 0,01 p_1 < 0,001	35,24 ± 3,61 p < 0,1 p_1 > 0,1	0,797 ± 0,017 p < 0,001 p_1 < 0,001
После операции 2–3 сутки, n = 6	1123,3 ± 41,3 p < 0,001 p_1 < 0,001 p_2 < 0,01	740,4 ± 27,2 p < 0,05 p_1 > 0,1 p_2 < 0,02	282,1 ± 17,2 p > 0,1 p_1 < 0,001 p_2 < 0,001	416,75 ± 7,11 p < 0,05 p_1 > 0,1 p_2 > 0,1	109,45 ± 2,08 p < 0,05 p_1 > 0,1 p_2 < 0,01	31,55 ± 0,29 p > 0,1 p_1 < 0,001 p_2 > 0,1	1,301 ± 0,095 p > 0,1 0,1 > p_1 > 0,05 p_2 < 0,001
После операции 7–8 сутки, n = 12	5465,1 ± 760,9 p < 0,01 p_1 > 0,1 p_2 < 0,01	578,5 ± 63,2 p > 0,1 p_1 < 0,05 p_2 > 0,1	562,0 ± 67,5 p < 0,001 p_1 > 0,1 p_2 < 0,01	439,86 ± 27,6 p = 0,05 p_1 > 0,1 p_2 > 0,1	120,02 ± 4,58 p > 0,1 p_1 > 0,1 p_2 < 0,01	45,59 ± 4,04 p < 0,05 p_1 > 0,1 0,1 > p_2 > 0,05	1,263 ± 0,126 p > 0,1 p_1 > 0,1 p_2 < 0,01

Примечания: p – различия достоверны по сравнению с контрольной группой;
p_1 – различия достоверны по сравнению с фоном до лечения;
p_2 – различия достоверны по сравнению с соответствующими показателями до операции.

Наиболее выраженные изменения зарегистрированы в глутатионовой антиоксидантной системе под влиянием терапии, включающей галавит. В этой группе больных наблюдалось увеличение уровня восстановленного глутатиона – на 40,6% относительно фона и на 36,6% относительно контрольной группы, увеличение активности ГПО достигло максимальных значений – соответственно на 29,1% и на 146,9%, наибольшим было и увеличение активности глутатионтрансферазы – на 10,6% относительно фона и на 22,1% относительно уровня контроля (табл. 2). Эти данные свидетельствуют об активации глутатионовой системы, что, по-видимому, было обусловлено использованием галавита в схеме ПХТ.

В раннем послеоперационном периоде (табл. 1) интенсивность хемилюминесценции резко снизилась – на 91,7% относительно значений перед операцией (ниже фоновых значений и уровня контрольной группы на 83,0% и 64,2% соответственно). К 7–8 суткам послеоперационного периода наблюдалось повышение этого показателя на 386,5% относительно значений на 2–3 сутки. Его уровень достоверно не отличался от фона и был выше, чем у здоровых людей на 74%. Содержание МДА в эритроцитах на 2–3 сутки увеличилось относительно дооперационного уровня и уровня контрольной группы на 23,9 и 30,6% соответственно и нормализовалось лишь к 7–8 суткам. Содержание МДА в плазме крови на 2–3 сутки после операции снизилось на 68,6% относительно дооперационного уровня, на 59,5% относительно фона и достоверно не отличалось от уровня у здоровых людей. На 7–8 сутки наблюдался

прирост содержания МДА в плазме крови (на 99,2% относительно предыдущего срока наблюдения и на 152,9% относительно уровня в контрольной группе), однако был менее выражен, чем у больных до и после химиотерапии (213,7 и 303,9% соответственно).

Таблица 2

Уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов в крови больных КРР, *(M ± m)*

Группы	Глутатион, мкМ/мг гем.	Глутатионпероксидаза, МЕ/мг гем.	Глутатионтрансфераза, МЕ/мг гем.	Глутатионредуктаза, МЕ/мг гем.
Контрольная группа, $n = 20–24$	30,33 ± 1,23 $n = 21$	200,77 ± 14,12 $n = 20$	59,86 ± 1,73 $n = 24$	7,75 ± 0,33 $n = 22$
До лечения, $n = 12$	29,46 ± 0,58 $p > 0,1$	384,08 ± 29,61 $p < 0,001$	66,07 ± 2,98 $0,1 > p > 0,05$	6,84 ± 0,65 $p > 0,1$
После лечения (перед операцией), $n = 12$	41,42 ± 4,16 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	495,71 ± 13,74 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	73,10 ± 4,05 $p < 0,01$ $p_1 > 0,1$	7,84 ± 0,21 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$
После операции 2–3 сутки, $n = 6$	30,39 ± 1,84 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$ $0,1 > p_2 > 0,05$	323,96 ± 13,48 $p < 0,001$ $p_1 > 0,1$ $p_2 < 0,001$	57,29 ± 1,21 $p > 0,1$ $0,1 > p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,02$	6,97 ± 0,027 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$ $p_2 < 0,02$
После операции 7–8 сутки, $n = 12$	29,52 ± 1,16 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$ $p_2 < 0,05$	393,34 ± 4,48 $p < 0,001$ $p_1 > 0,1$ $p_2 < 0,001$	66,63 ± 2,03 $p < 0,05$ $p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$	7,21 ± 0,67 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$

Примечания: p – достоверность различий по сравнению с контрольной группой;
p_1 – достоверность различий по сравнению с фоном до лечения;
p_2 – достоверность различий по сравнению со значениями до операции.

Изучение динамики интенсивности хемилюминесценции и содержания МДА в плазме крови выявило сходство в выраженности и направленности изменений данных показателей, которые отражают образование свободнорадикальных и молекулярных продуктов ПОЛ.

Изучение активности СОД показало слабовыраженную тенденцию в сторону нормализации: если до операции она была ниже уровня в контроле на 23,7%, то на 2–3 сутки после операции ее снижение составило 17,9%, а на 7–8 сутки отмечена лишь тенденция к снижению на 13,3%. Активность каталазы на 2–3 сутки после операции была снижена (в эритроцитах на 27% относительно значений до операции и на 14,6% относительно контроля, а в плазме на 20,6% относительно фона), а на 7–8 сутки наблюдалось увеличение активности на 9,7% в эритроцитах и на 44,5% в плазме крови. Отмечено, что активность каталазы в эритроцитах достоверно не отличалась от значений в контрольной группе, а в плазме превышала ее на 29,6%. Активность церулоплазмина после операции увеличилась относительно дооперационного уровня на 63,2% на 2–3 сутки и на 58,5% на 7–8 сутки и не отличалась от уровня в группе здоровых людей (табл. 1).

В послеоперационном периоде уровень восстановленного глутатиона снизился на 26,6–28,7% относительно значения до операции и не отличался от контрольного уровня. Активность всех глутатионзависимых ферментов снизилась на 2–3 сутки после операции относительно значений после проведения ПХТ и антиоксидантной терапии (глутатионредуктазы на 11,1%, глутатионтрансферазы на 21,6%, глутатионпероксидазы на 34,7%). Активности глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы вернулись к норме, а активность глутатионпероксидазы превышала ее на 61,4%. На 7–8 сутки отмечен рост активности глутатионзависимых ферментов и активность глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы превысила значения в контрольной группе на 95,9 и 11,3% соответственно, но была ниже, чем перед операцией (табл. 2).

Таким образом, после проведения комплексного лечения больных колоректальным раком, включающего неоадъювантную полихимиотерапию, дополненную введением препаратов с иммуномодулирующим и антиоксидантным действием, и операцию, наблюдается частичная или полная нормализация всех компонентов, вносящих вклад в работу как первой линии антиоксидантной защиты, так и системы глутатиона.

Список литературы

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.

2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 г. // Вестник РОНЦ им Н.Н. Блохина РАМН. – 2008. – Т. 12. – С. 3–154.

3. Интегральные показатели эндогенной интоксикации и окислительного стресса у больных с почечной недостаточностью / И.И. Павлюченко [и соавт.] // Нефрология и диализ. – 2003. – Т. 5. – № 1. – С. 28.

4. Камышников В.С., ред. Методы клинических лабораторных исследований. – 6-е изд. – М.: МЕДпресс-информ; 2013. – 736 с.

5. Antioxidant enzymes and cancer. Asaduzzaman K., Mousumi T., Dian-zheng Zhang, Han-chun Chen // Chinese Journal of Cancer Research. – 2010. – Vol. 22, Iss. 2. – P. 87–92.

6. Barrera G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. ISRN Oncology. 2012. Article ID 137289, 21 pages. http://dx.doi.org/10.5402/2012/137289 (accessed 27 March 2014).

7. Interfering with ROS metabolism in cancer cells: the potential role of Quercetin. Gibellini L. [et al.] // Cancers. 2010. no. 2. pp. 1288–1311.

8. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis / J.E. Klaunig, Z. Wang, X.Pu, S. Zhou // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2011. – № 254. – P. 86–99.

9. Pervaiz S., Clement M.-V. Superoxide anion: Oncogenic reactive oxygen species? The International // Journal of Biochemistry and Cell Biology. – 2007. – № 39. – P. 1297–1304.

10. Surgical treatment of colon cancer in patients aged 80 years and older: Analysis of 31,574 patients in the SEER-Medicare database. Neuman H.B. [et al.]. Cancer. 2012 Aug 14 doi: 10.1002/cncr.27765.

References

1. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. sPb.: IKF «Foliant», 2000, 104 p.

2. Davidov M.I., Aksel E.M. Vestnik RONC RAMN, 2008, v. 12, pp. 3–154.

3. Pavlyuchenko I.I. Nefrologia i dialis, 2003, Vol. 5, no. 1, pp. 28.

4. Kamyshnikov V.S. M.: MED press-inform; 2013, 736 p.

5. Antioxidant enzymes and cancer. Asaduzzaman K., Mousumi T., Dian-zheng Zhang, Han-chun Chen. Chinese Journal of Cancer Research. 2010. Vol.22, Iss.2. pp. 87–92.

6. Barrera G. Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. ISRN Oncology. 2012. Article ID 137289, 21 pages. http://dx.doi.org/10.5402/2012/137289 (accessed 27 March 2014).

7. Interfering with ROS metabolism in cancer cells: the potential role of Quercetin. Gibellini L. [et al.] // Cancers. 2010. no. 2. pp. 1288–1311.

8. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis / J.E. Klaunig, Z. Wang, X.Pu, S. Zhou // Toxicology and Applied Pharmacology. 2011. no. 254. pp. 86–99.

9. Pervaiz S., Clement M.-V. Superoxide anion: Oncogenic reactive oxygen species? The International // Journal of Biochemistry and Cell Biology. 2007. no. 39. pp. 1297–1304.

10. Surgical treatment of colon cancer in patients aged 80 years and older: Analysis of 31,574 patients in the SEER-Medicare database. Neuman H.B. [et al.]. Cancer. 2012 Aug 14 doi: 10.1002/cncr.27765.

Рецензенты:

Павлюченко И.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Краснодар;

Мизиев И.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской и эндоскопической хирургии, ГБОУ ВПО «Кабардино-Балкарский университет им. Х.М. Бербекова» Министерства образования и науки РФ, КБР, г. Нальчик.

Работа поступила в редакцию 30.04.2014