

Біоелектрична активність інтернейронів спинного мозку самиць білих щурів за умов експериментальної менопаузи

О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»; e-mail: tkachenkoss@i.ua

Аналізували особливості параметрів збудливості та амплітудно-часових характеристик компонентів потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку статевозрілих самиць білих щурів в умовах експериментальної менопаузи. Встановлено підвищення порога збудження аферентних волокон спинного мозку на 102,14% та латентного періоду на 94,12% у тварин після оваріоектомії. За умов супрамаксимальної стимуляції дорсального корінця L5 виявлено зростання амплітуди компонентів N_1 на 10,14%, N_2 на 11,82%, N_3 на 48,28%, та P-хвилі на 31,58% і збільшення тривалості N_3 -компонента на 26,54% в дослідній групі. При стимуляції парними імпульсами на часовому проміжку від 2 до 3 мс спостерігалось вірогідне ($P < 0,01$) збільшення, а з 6 по 30 мс – пригнічення N_1 -компонента другого ПДП у групі тварин з експериментальною менопаузою. Таким чином, отримані нами результати дають змогу зробити висновок про різноспрямовані зміни збудливості у нервових структурах заднього рогу спинного мозку за умов нестачі естрогенів.

Ключові слова: менопауза; потенціал дорсальної поверхні спинного мозку; інтернейрон; щури-самиці.

ВСТУП

При клімаксі або в передклімактеричний період жінки часто скаржаться на м'язові і суглобові болі, м'язове напруження, акропарестезії [1]. Такі симптоми можуть бути викликані прискореним розвитком інволютивних форм остеоартрозу і остеохондрозу в результаті дегенеративно-дистрофічних процесів у сполучнотканинних утвореннях (зв'язковий апарат, міжхребцеві диски), а також розвитком системного остеопорозу, що проходять більш прискорено на тлі дефіциту естрогенів [1,2]. Має особливе значення і модулювальний вплив жіночих статевих гормонів на центральну нервову систему, зокрема - ноцицептивну чутливість [3] через дію на глутаматіндуковані струми, інгібування рецепторів ГАМК і гліцину, або модуляції опіоїдних рецепторів у задніх рогах спинного мозку [4,5,6], що також може впливати на виникнення больових симптомів

© О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко

у м'язах і суглобах в постменопаузі. Основна дія естрогену на нейрони здійснюється через активацію ядерних α - і β -рецепторів естрогену ($ER\alpha/\beta$), що викликає довгострокові геномні ефекти [7], а також активацію цитоплазматичних механізмів сигналізації поблизу плазматичної мембрани або на її поверхні [8] і здійснюється через мембранні класичні ERs [9] та новостворені ERs [10]. Дослідження показали, що $ER\alpha$ особливо виражені в I, II та IV пластинках сірої речовини дорсального рогу спинного мозку, і є найбільш поширеними у нижніх поперекових і крижових сегментах [11]. Відомо, що ноцицептивна передача може бути полегшена блокуванням $ER\alpha$ селективним антагоністом метил-піперидин-піразолом (MPP). Також показано, що в задніх рогах спинного мозку тварин $ER\alpha$ бере участь у модуляції больової Ад- і С-афферентної передачі [12]. Ці дані створюють основу для висунення гіпотези, що естроген, через активацію $ER\alpha$, безпосе-

редньо може регулювати передачу болю на центральному рівні [13].

Естрогеніндуковане потенціювання глутаматних струмів та інгібування ГАМК і гліцинових рецепторів може відігравати роль в активації центральних шляхів болю [14]. Однак є дослідження, згідно з якими активація ER α естрогеном може перешкоджати ноцицептивній передачі через шляхи сигналізації за участю протеїнкінази С. Таким чином, ER α -опосередковане негативне регулювання ноцицептивної передачі, можливо, якоюсь мірою урівноважене дією естрогену на інші рецептори [12]. Треба зазначити, що у наших попередніх дослідженнях було підтверджено наявність достовірних змін у периферичних структурах у щурів експериментальної групи, зокрема, у нервово-м'язовому апараті, за умов дефіциту естрогенів [15].

Метою цього дослідження було вивчити параметри збудливості інтернейронних пулів та амплітудно-часові характеристики компонентів потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи у самиць білих щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на 30 статевозрілих щурах лінії Вістар віком 6–8 міс, масою 180–240 г, яких було розділено на 2 групи. Перша група – інтактні тварини (n=14), друга – тварини з експериментальною менопаузою (n=16). Менопаузу у самиць щурів модельювали малоінвазивною оваріогістеректомією через серединний лапаротомічний доступ [15]. У контрольній групі виконували оперативне втручання – серединну лапаротомію. Обидві групи тварин утримували в стандартних умовах віварію (22±2°C, світлий/темний цикл – 12/12 год) на стандартній дієті протягом 120 діб, після чого їх брали у гострий експеримент [16]. Під загальною анестезією тіопенталом натрію («Sigma», США, 50 мг/кг) виконували ламінектомію та розтин твердої мозкової оболонки спинного мозку. Потім

спинний мозок перетинали на рівні сегментів Th₁₂-L₁ та заливали вазеліновим маслом. Для усунення проявів спінального шоку тварину витримували 3 год за 36°–37°C [17,18].

При аналізі параметрів ПДП спинного мозку було застосовано супрамаксимальну силу подразнення (5 П), якої достатньо для активації всіх низькопорогових аферентів [17]. Подальше збільшення інтенсивності подразнення не викликало підвищення амплітуди цього показника.

Дорсальний корінець L₅ стимулювали за допомогою біполярних електродів прямокутними поодинокими імпульсами тривалістю 0,3 мс і амплітудою від 1 до 5 П, а також парними стимулами з інтервалом нанесення від 2 до 1000 мс. ПДП відводили у фокусі максимальної активності за допомогою монополярного срібного кулькового електрода. Референтний електрод розміщували на м'язі нижньої кінцівки [17]. Для стимуляції використовували стандартну електрофізіологічну апаратуру. Реєстрували ПДП за допомогою аналого-цифрового перетворювача та персонального комп'ютера. Досліджувалися такі параметри ПДП: поріг, хронаксію, тривалість латентного періоду, загальну тривалість ПДП, тривалість та амплітуду аферентного піку, N₁, N₂, N₃-компонентів та Р-хвилі [18].

Для обробки результатів використовували: розрахунок показників наочності у відсотках, середню арифметичну та похибку середньої (M±m). Вірогідність оцінювали за допомогою методів параметричної статистики (критерій t Стьюдента). Зміни показників вважали вірогідними при P<0,05 та P<0,01. Всі експериментальні процедури були виконані відповідно до Європейської директиви Ради співтовариств від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні параметрів збудливості було встановлено, що за умов експеримен-

тальної менопаузи у самиць щурів значення порогового подразнення аферентних волокон дорсальних корінців збільшилася на $102,14 \pm 14,29\%$ ($P < 0,01$). Хронаксія ПДП при цьому зменшувалася на $7,1 \pm 4,37\%$. Проте ця зміна вірогідною не була ($P > 0,05$, рис. 1). Латентний період у тварин після оваріоектомії зростав на $94,12 \pm 6,06\%$ ($P < 0,01$, рис. 2).

При аналізі компонентів ПДП за умов супрамаксимальної стимуляції дорсального корінця спинного мозку за умов дефіциту естрогенів (рис. 3) було виявлено збільшення порівняно з інтактною групою амплітуди компонента N_1 на $10,14 \pm 2,63\%$ ($P = 0,05$), N_2 на $11,82 \pm 2,64\%$ ($P < 0,05$), N_3 на $48,28 \pm 4,65\%$ ($P < 0,01$), та Р-хвилі на $31,58 \pm 8,0\%$ ($P = 0,05$). Амплітуда аферентного піку суттєво не змінювалася. Тривалість компонентів ПДП змінювалася різноспрямовано. Так, у N_3 -компонента вона збільшилася на $26,54 \pm 5,47\%$ ($P < 0,05$); тривалість аферентного піку збільшилася на $9,38 \pm 4,29\%$, а N_1 зменшилася на $11,24 \pm 3,80\%$, проте ці зміни не були достовірними ($P > 0,05$). Тривалість компонента N_2 та Р-хвилі, як і загальна тривалість ПДП, суттєвих змін не зазнавала (див. рис. 2).

Для з'ясування змін деполяризації первинних аферентів спинного мозку внаслідок процесів пресинаптичного гальмування за умов експериментальної менопаузи було використано метод парної стимуляції [17]. При цьому на часовому проміжку від 2 до 3 мс спостерігалось вірогідне збільшення, а з 6 по 30 мс – пригнічення N_1 -компонента другого ПДП у групі тварин з менопаузою ($P < 0,01$, рис. 4).

Згідно з більш ранніми дослідженнями [18], в результаті ішемії змінювалася швидкість проведення в аферентних волокнах дорсального корінця з аналогічними змінами у пресинаптичних компонентах ПДП, що проявлялось у збільшенні латентності аферентного піку. Це може пояснювати збільшення латентного періоду та деяке подовження аферентного піку, виявлені нами в експериментальній групі (див. рис. 2).

Причиною гіпоксії нервових стовбурів може бути гіпоестрогенемія, оскільки відома наявність прямих судинних ефектів цих гормонів та їх вплив на гемодинаміку в різних судинних регіонах. Одним з ефектів є значне підвищення завдяки естрогенам утворення оксиду азоту NO через збільшення вмісту кальційзалежної синтетази оксиду азоту у клітинах ендотелію судин [2]. До того ж, маючи активні антиоксидантні властивості, естрогени пригнічують перекисне окиснення ліпопротеїдів низької щільності, окиснені форми яких інгібують NO. Також ці гормони, підвищенням транскрипції генів ферментів простагліцинісинтетази і циклооксигенази, стимулюють утворення простагліцину, який пригнічує вазоконстрикторні реакції на ендотелін-1 та зменшує пресорний ефект ангіотензину II [2]. Ішемія нервових шляхів, викликана гальмуванням чи повною відсутністю вказаних вище ефектів, розвиватиметься на фоні підвищеної чутливості нервових структур до гіпоксії, що також може бути зумовлено дефіцитом естрогенів з нейропротекторними ефектами, значущим механізмом яких є їх здатність активувати ген VEGF

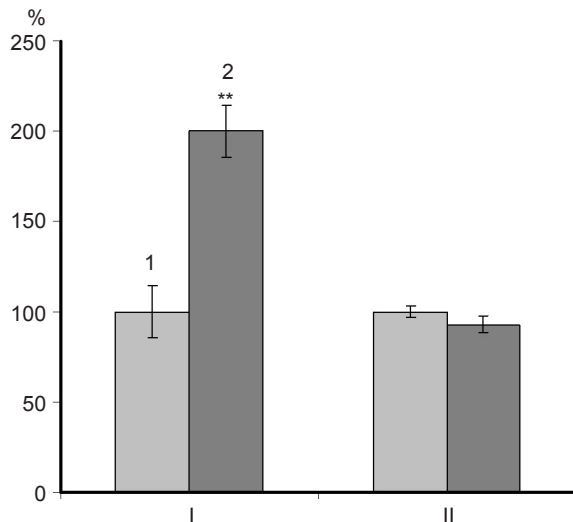


Рис 1. Характер змін основних параметрів потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку (I – порога; II – хронаксії) за умов експериментальної менопаузи: 1-інтактні тварини, 2-тварини з менопаузою. ** $P < 0,01$ – вірогідність порівняно з контролем

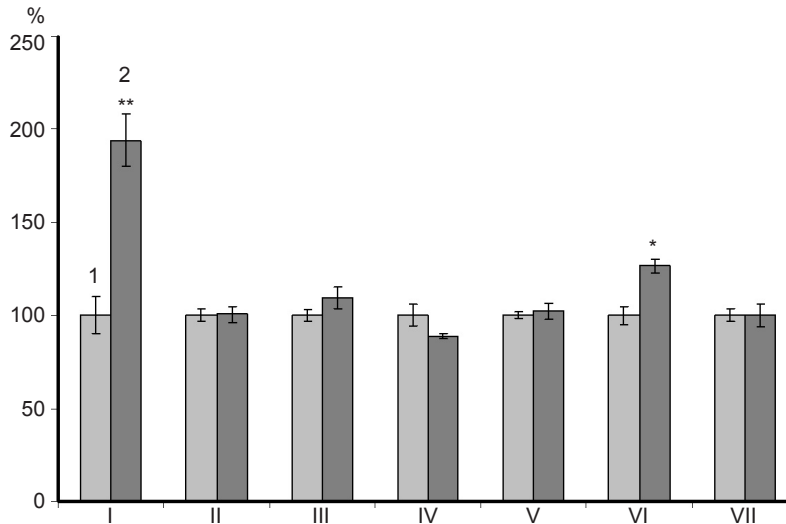


Рис. 2. Зміни часових характеристик потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку у тварин з експериментальною менопаузою (2) порівняно з інтактною групою (1): I – латентний період, II – загальна тривалість ПДП, III – тривалість аферентного піку, IV, V, VI – N_1 , N_2 , N_3 -компонентів відповідно, VII – P-хвилі ПДП. * $P < 0,05$ та ** $P < 0,01$ – вірогідність порівняно з контролем

(судинний ендотеліальний фактор росту), що значно підвищується в умовах гіпоксії [19].

Зафіксоване нами збільшення латентного періоду та порога ПДП у тварин дослідної групи також можна пояснити тим, що деструктивні зміни організації мікроструктури аксолеми внаслідок порушення організації мікротрубочок аксонів, особливо в мієлінізованих волокнах, негативно впливають на

збудливість і швидкість проведення імпульсу нервовими волокнами [16].

Відомо, що естрогени за допомогою активації ER α у дорсальному розі сірої речовини спинного мозку зменшують збудливу глутаматергічну передачу при подразненні аферентних волокон як A δ - так і C-типу [12]. Дефіцит же естрогенів може призводити до зворотного ефекту, що пояснює збіль-

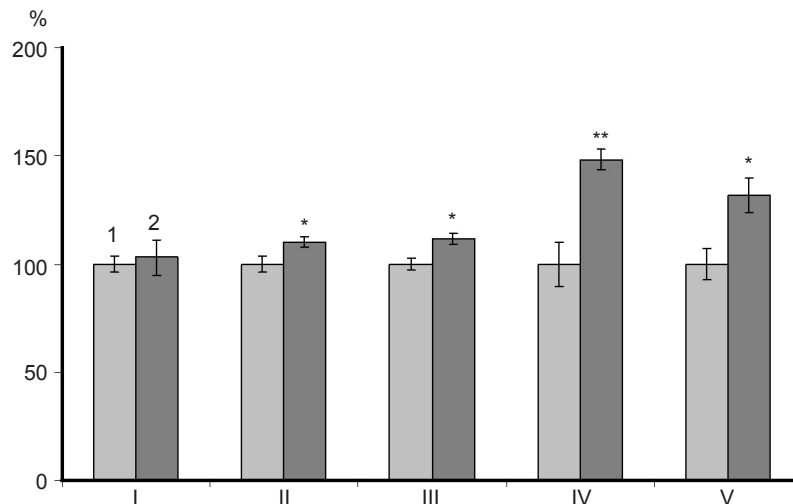


Рис. 3. Зміни амплітуди аферентного піку та постсинаптичних компонентів потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку у тварин з експериментальною менопаузою (2) порівняно з інтактною групою (1): I – аферентного піку; II, III, IV – N_1 , N_2 , N_3 -компонентів відповідно, V – P-хвилі ПДП. * $P < 0,05$ та ** $P < 0,01$ – вірогідність порівняно з контролем

шення амплітуди компонентів N_1 - N_3 ПДП спинного мозку, адже останні характеризують активність постсинаптичних структур заднього рога, зокрема, сегментарних (N_1 , N_2) та несегментарних інтернейронів (N_3) [18]. Також відомо, що застосування селективного блокатора $ER\alpha$ призводить до збільшення частоти виникнення спонтанних збуджувальних постсинаптичних струмів у нейронах желатинозної субстанції спинного мозку [12]. Їх часова та просторова сумація на інтернейронах дорсального рогу спинного мозку може сприяти зростанню активності вказаних нейронних груп, що відображається у зміні амплітуди відповідних N-компонентів, та збільшенню кількості сегментарних інтернейронів, які відповідають на подразнення аферентних волокон дорсального корінця, про що свідчить зростання тривалості N_3 -компонента [18].

Також зростання амплітуди N-компонентів може бути пов'язане зі зрушенням потенціалу залежності активації натрієвих каналів так, що для досягнення порога і генерації натрієвого струму нормального значення потрібні менші рівні деполяризації [20]. Спричинити це може зниження вмісту

кальцію у крові та міжклітинній рідині, зумовлене дефіцитом естрогенів [21].

Відомо, що естроген потенціює глутаматіндуковані струми через вплив на процес цАМФ-залежного фосфорилування [4], а селективний антагоніст $ER\alpha$ пресинаптично полегшує збуджувальну синаптичну передачу до нейронів желатинозної субстанції. У цих умовах посилюється пресинаптичне гальмування первинних аферентів гальмівними нейронами желатинозної субстанції [12]. Крім того, естроген може інгібувати ГАМК і гліцинові рецептори [5,6]. Тому за умов дефіциту естрогену кількість вказаних рецепторів в активному стані збільшується, що також може створювати умови для поглиблення пресинаптичного гальмування.

Перелічене вище може пояснити виражене пригнічення N_1 -компонента другого ПДП у дослідній групі при подвійному подразненні дорсального корінця з інтервалами 6 – 100 мс (див. рис. 4), що може вказувати на активування пресинаптичного гальмування інтернейронів IV пластини сірої речовини [22], у тому числі з боку желатинозної субстанції, нейрони якої здебільшого беруть участь у формуванні P-хвилі [18,23]. На користь цьо-

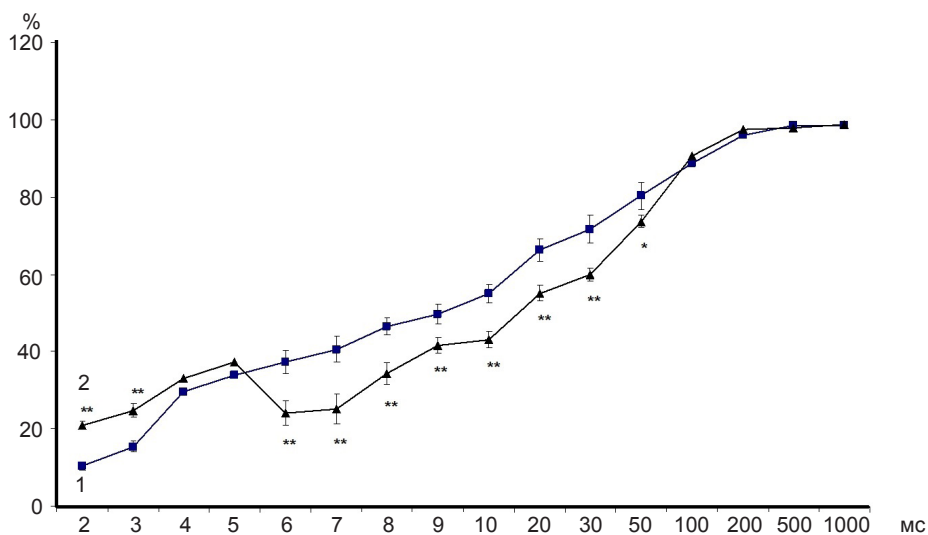


Рис. 4. Зміна амплітуди N_1 -компонента другого потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) спинного мозку відносно N_1 -компонента першого ПДП при подразненні дорсального корінця подвоєними імпульсами з різними інтервалами у тварин контрольної (1) та експериментальної (2) груп. * $P < 0,05$ та ** $P < 0,01$ – вірогідність порівняно з контролем.

го говорить відповідність проміжку з 6-ї по 100-ту мілісекунду тривалості позитивного компонента першого ПДП, амплітуда якого у дослідній групі вірогідно збільшена порівняно з інтактними тваринами (див. рис. 3).

Ще однією причиною зниження амплітуди N_1 -компонента другого ПДП є гомосинаптична депресія, пов'язана з виснаженням запасів нейромедіаторів у пресинаптичних терміналях та десенситизацією постсинаптичних мембран за умов повторного проходження збудження через ті самі нейронні ланцюги [24]. Агоністи рецепторів естрогенів потенціюють аксонний транспорт через альтернативний негеномний сигнальний шлях, який реалізується внаслідок активації ERK-залежного внутрішньоклітинного сигнального каскаду [25]. Дефіцит естрогенів може призвести до порушення аксонного транспорту, і, як наслідок, поповнення пулу медіатора у пресинаптичних закінченнях, що відобразиться на посилення гомосинаптичної депресії у тварин дослідної групи.

Таким чином, отримані нами результати дають змогу зробити висновок про різноспрямовані зміни у нервових структурах заднього рогу спинного мозку самиць шурів за умов нестачі естрогенів. Так, збудливість низькопорогових аферентних нервових волокон заднього корінця у тварин дослідної групи значно знижується. Проте активність інтернейронного пулу підвищується, насамперед внаслідок розгальмовування несегментарних інтернейронів та збільшення активності нейронів желатинозної субстанції у задньому розі, при одночасному зростанні пресинаптичного гальмування первинних аферентів. Однак сумарним ефектом довгострокової естрогенної недостатності є переважання явищ збудження над гальмуванням та полегшення нервової передачі у структурах заднього рогу спинного мозку, що підтверджує дані, отримані *in vitro* при вивченні особливостей активності желатинозної субстанції за умов застосування селективного інгібітора естрогенних рецепторів (Erg).

А.Г. Родинский, С.С. Ткаченко

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИНТЕРНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА САМОК БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕНОПАУЗЫ

Анализировали особенности параметров возбудимости и амплитудно-временных характеристик компонентов потенциала дорсальной поверхности (ПДП) спинного мозга половозрелых самок белых крыс в условиях экспериментальной менопаузы. Установлено повышение порога возбуждения аферентных волокон задних рогов спинного мозга на 102,14% и латентного периода на 94,12% у животных после овариоэктомии. В условиях супрамаксимальной стимуляции дорсального корешка L5 выявлен рост амплитуды N_1 -компонентов на 10,14%, N_2 на 11,82%, N_3 -компонента на 48,28%, и P-волны на 31,58% и увеличение продолжительности N_3 -компонента на 26,54% в экспериментальной группе. При стимуляции парными импульсами на временном промежутке от 2 до 3 мс наблюдалось достоверное увеличение, а с 6 по 30 мс - угнетение N_1 -компонента второго ПДП в группе животных с менопаузой. Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о разнонаправленных изменениях в возбудимости нервных структур заднего рога спинного мозга в условиях недостатка эстрогенов.

Ключевые слова: менопауза; потенциал дорсальной поверхности спинного мозга; интернейрон; крысы-самки.

A.G. Rodinsky, S.S. Tkachenko

BIOELECTRIC ACTIVITY OF INTERNEURONES OF SPINAL CORD IN THE EXPERIMENTAL MENOPAUSE IN FEMALE RATS

We analyzed the amplitude-time characteristics of the components of the potential dorsal surface of the spinal cord (PDS SC) in experimental menopause. The excitation threshold increased at 102.14% and the latent period at 94.12% in animals with experimental menopause. In the context of supramaximal stimulation of dorsal root L5 identified N_1 amplitude growth at 10.14%, N_2 at 11.82%, N_3 at 48.28%, and P-wave 31.58% and to increase component N_3 26.54% in the experimental group. At condition of paired stimulation pulses on the time interval from 2 to 3 ms there was a significant increase, and from 6 to 30 ms – a depression of N_1 -component of the second PDS SC in the group of animals with experimental menopause. Thus, our results suggest the presence of changes in nerve structures of the posterior horn of the spinal cord at conditions of estrogen deficiency.

Key words: menopause; potential of dorsal surface of spinal cord; interneuron; rat.

REFERENCES

1. Dobrokhotova YuE. Menopausal syndrome. Lechebnoe delo. 2004;(1):3-8. [Russian].
2. Malichenko SB, Volkova VA, Khalidova KK. System changes in menopause. The role of calcium deficiency and vitamin D in the formation of post-menopausal symptom. Sovpennaya revmatologiya. 2008;(1):20-31. [Russian].
3. Craft RM. Modulation of pain by estrogens. Pain 2007;132(1):3-12.
4. Gu Q, Korach KS, Moss RL. Rapid action of 17 β -estradiol on kainate-induced currents in hippocampal neurons lacking intracellular estrogen receptors. Endocrinology. 1999;140(2):660-6.
5. Jiang P, Kong Y, Zhang XB, Wang W, Liu CF, Xu TL. Glycine receptor in rat hippocampal and spinal cord neurons as a molecular target for rapid actions of 17- β -estradiol. Mol Pain. 2009;5:2.
6. Li W, Jin X, Covey DF, Steinbach JH. Neuroactive steroids and human recombinant $\rho 1$ GABAC receptors. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323(1):236-47.
7. Maggi A, Ciana P, Belcredito S, Vegeto E. Estrogens in the nervous system: mechanisms and nonreproductive functions. Annu Rev Physiol. 2004;66:291-313.
8. Edwards DP. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone. Annu Rev Physiol. 2005;6:335-76.
9. Levin ER. Cellular functions of plasma membrane estrogen receptors. Steroids. 2002;67(6):471-5.
10. Qiu J, Bosch MA, Tobias SC, Grandy DK, Scanlan TS, Ronnekleiv OK, Kelly MJ. Rapid signaling of estrogen in hypothalamic neurons involves a novel G-protein-coupled estrogen receptor that activates protein kinase C. J Neurosci 2003;23(29):9529-40.
11. Vanderhorst VG, Gustafsson JA, Ulfhake B. Estrogen receptor- α and - β immunoreactive neurons in the brainstem and spinal cord of male and female mice: relationships to monoaminergic, cholinergic, and spinal projection systems. J Comp Neurol. 2005;488(2):152-79.
12. Zhong YQ1, Li KC, Zhang X. Potentiation of excitatory transmission in substantia gelatinosa neurons of rat spinal cord by inhibition of estrogen receptor alpha. Molecular Pain. 2010;6:92.
13. Amandusson S, Blomqvist A. Estrogen receptor- α expression in nociceptive-responsive neurons in the medullary dorsal horn of the female rat. Eur J Pain 2009;14(3):245-8.
14. Mitrovic I, Margeta-Mitrovic M, Bader S, Stoffel M, Jan LY, Basbaum AI. Contribution of GIRK2-mediated postsynaptic signaling to opiate and $\alpha 2$ -adrenergic analgesia and analgesic sex differences. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100(1):271-6.
15. Rodins'kiy OG, Tkachenko SS, Mozgunov OV. Electrophysiological analysis of neuromuscular excitability complex in experimental. Eksperyment ta klin fiziol and biohim. 2014;(3):7-13. [Ukrainian].
16. Unal D, Halici Z, Altunkaynak Z, Keles ON, Oral E, Unal B. A new hypothesis about neuronal degeneration appeared after a rat model of menopause. Neurodegener Diseases. 2012;9(1):25-30.
17. Makiy EA, Nerush PA, Rodinskiy AG. Parameters of the potential of the dorsal surface of the spinal cord of rats with experimental hyperthyroidism. Neyrofiziologiya. 2001;33(4):279-85. [Russian].
18. Florov AK. On the origin of the dorsal surface of the potential of the brain sinnogo [dissertation]. Dnepropetrovsk state medical academy; 1966. [Russian].
19. Ogunshola OO, Antic A, et al. Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervous system. J Biol Chem. 2002;277(13):11410-15.
20. Neumcke B, Stampfli R. Heterogeneity of external surface charges near sodium channels in the nodal membrane of frog nerve. Pflugers Arch. 1984;401:125-31.
21. Beck MM, Hansen KK. Role of estrogen in avian osteoporosis. Poult. Sci. 2004;83(2):200-6.
22. Szekely G, Kozaras B. Electron microscopic identification of postsynaptic dorsal root terminals: a possible substrate of dorsal root potentials in the frog spinal cord. Exp. Brain Res. 1977;29(3/4):531-39.
23. Shugurov OO, Shugurov OA. Investigation of occurrence of late positive wave of the PDS SC. Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu (Biologiya, Ekologiya). 2002;1(10):149-54. [Russian].
24. Capek R, Esplin B. Homosynaptic depression and transmitter turnover in spinal monosynaptic pathway. J. Physiol. 1977;40(1):95-105.
25. Islamov RR, Murashov AK, Chelyshev YuA. Protein synthesis in the axon: Overview. Morfologiya. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii: Nauchno-teoreticheskiy meditsinskiy zhurnal. 2005;128(6):70-6. ISSN 0004-1947 [Russian].

Матеріал надійшов до редакції 11.02.2015