

## **ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ З ІМУНОСТИМУЛЮЮЧИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ «ВІТАСТИМ» НА ОРГАНІЗМ КУРЧАТ, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСОМ НИЗЬКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ**

*Г. А. Красніков, П. О. Шутченко, Д. В. Музика, Л. В. Коваленко,  
О. В. Обуховська, К. О. Медвідь*

Національний науковий центр «Інститут експериментальної  
і клінічної ветеринарної медицини»

*За результатами патоморфологічних досліджень впливу рослинного препарату з імуностимулюючими властивостями «Вітастим» на організм курчат, експериментально інфікованих вірусом низькопатогенного грипу А/мартин/Україна/2007 H13N5, встановлено, що даний препарат більш активно впливає на гуморальну ланку імунної відповіді, що підтверджується більш інтенсивним утворенням та накопиченням В-лімфоцитів, що продукують імуноглобуліни. При дослідженні стану імунокомпетентних органів за низькопатогенного грипу птиці встановлено суттєві патоморфологічні зміни у трахеї (ділянки катарального запалення, на що вказували набряки власне слизової, розширення та надмірне кровонаповнення судин, руйнування епітелію, ексудат у просвіті) та легенях (набряки навколо судин, біля судин малого діаметру збільшена кількість лімфоїдних клітин).*

Через зростання обмежень на використання антибіотиків є нагальною потреба в розробці альтернативних стратегій контролю захворювання проти багатьох патогенів птиці, включаючи вірус пташиного грипу. імуностимуляція з використанням натуральних рослинних продуктів показує ефективність у підвищенні природженого імунітету птиці загалом, а також у збільшенні резистентності захворювання проти кишкових патогенів [1, 2]. Виявлено синергетичний вплив дієтичних препаратів Curcuma, Capsicum і Lentinus на підвищення місцевого імунітету проти інфекційних захворювань (3, 4). Однак основні імунні механізми, які відповідають за імунне удосконалення, спричинене лікуванням рослинними препаратами, добре не вивчені. Отже, в цій статті ми досліджували стан внутрішніх, у тому числі імунокомпетентних, органів, після зараження вірусом низькопатогенного грипу птиці та згодовування імуностимулюючого рослинного препарату «Вітастим».

**Матеріали і методи.** Було сформовано 3 групи курчат по 18 голів у кожній групі. Перша група птиці була заражена вірусом низькопатогенного грипу (А/мартин/Україна/2007 H13N5) внутрішньом'язово у дозі  $10^6$  ЕІД<sub>50</sub>/гол. Препарат «Вітастим» додавався до питної води щоденно у дозі 0,2 мг/кг. Друга група курчат була заражена вірусом низькопатогенного грипу (А/мартин/Україна/2007 H13N5) внутрішньом'язово у дозі  $10^6$  ЕІД<sub>50</sub>/гол. Третя група курчат слугувала інтактним контролем.

Забій курчат було здійснено на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у та 21-у добу. Від курчат було відібрано зразки внутрішніх органів — бурса Фабриціуса, селезінка, тимус, сліпа кишка, трахея, легені. Зафіксовані у 10 % розчині нейтрального формаліну зразки органів були залиті у парафін, згідно із стандартною методикою [5]. У подальшому із органів було виготовлено гістологічні зрізи 3 мікрони завтовшки та пофарбовані гематоксиліном і еозином. Для гістоморфометричної оцінки виготовлених препаратів використовували методичні рекомендації щодо гістоморфологічної оцінки імунокомпетентних органів курчат в нормі та при імунодефіцитах [6].

Дослідження гістологічних препаратів здійснювали з використанням мікроскопа Axioskop 40/40FL (Carl Zeiss, Німеччина) з наступним відео-мікроскопічним фотографуванням. Кількісну морфометричну оцінку здійснювали за допомогою програми ВідеоТест-Морфологія 5.1 [7].

**Результати й обговорення.** У результаті гістологічного дослідження селезінки на третю добу після зараження курчат вірусом низькопатогенного грипу А/мартин/Україна/2007 H13N5 спостерігали численні периартеріальні лімфоїдні муфти щільно заповнені клітинами, серед яких переважали середні, великі лімфоцити та лімфобласти. Гермінативні фолікули у площині зрізу не численні. Особливу увагу привертала реакція ретикулярних муфт: їхня кількість та розмір збільшені. Вони займали майже  $\frac{1}{2}$  площі зрізу селезінки та були представлені декількома рядами ретикулоепітеліальних клітин. Лімфоїдні та ретикулярні муфти відіграють важливу роль при формуванні імунологічної відповіді у птиці. Тому збільшення їхньої кількості та розмірів свідчить про реакцію імунної системи на введення антигену посиленням морфофункціонального стану селезінки.

На п'яту добу в селезінці відбувалося збільшення розмірів периартеріальних лімфоїдних муфт. У білій пульпі зростала кількість переважно малих лімфоцитів, а також середніх і бластів. Ретикулярні муфти були численними, але у порівнянні з третьою добою – зменшеними у розмірі. Гермінативні фолікули, як і в попередньому дослідженні, були не численними.

Починаючи з сьомої доби після зараження вірусом спостерігали незначне зниження морфофункціональної активності селезінки, про що свідчило зменшення розміру ретикулярні муфти, периартеріальні лімфоїдні муфти хоча й були широкими проте їхня кількість знижувалася у порівнянні з попереднім дослідженням.

На десяту добу відзначали збіднення тканини селезінки імунокомпетентними клітинами. Особливо це було помітно навколо ретикулярних муфт, де спостерігали просвітлені зони на місці загибелі клітин і накопичення зернистих продуктів розпаду ядер. На чотирнадцяту добу лімфоїдне спустошення органу було вже більш вираженим. Оголювалась ретикулярна строма. Периартеріальні лімфоїдні муфти не численні та не широкі. Слід зазначити, що у всіх досліджених зразках селезінки курчат з 3-ї по 14-у добу у площині зрізу нараховувалась незначна кількість гермінативних фолікулів.

У результаті гістологічного дослідження сліпої кишки встановлено, що структура кишечних ворсинок, епітелію була без змін. У площині поперечного зрізу сліпо-кишкового мигдалика спостерігали велику кількість лімфатичних вузликів, що були щільно заповнені клітинами. Відзначались ознаки формування передвузликів. Дифузна лімфоїдна тканина була щільно заповнена малими, середніми лімфоцитами та лімфобластами.

На п'яту добу спостерігали посилення морфофункціональної активності сліпо-кишкового мигдалика, про що свідчило збільшення кількості та розмірів лімфатичних вузликів та передвузликів.

Епітелій кишечних ворсинок без змін, активно секретуючий. Починаючи з сьомої доби спостерігали ознаки зниження морфофункціональної активності мигдалика. На десяту добу розмір його зменшувався. Дифузна лімфоїдна тканина заповнена клітинами не щільно. Лімфатичні вузлики втрачали характерну структуру і мали вигляд овальних світлих структур, відмежованих оболонкою від оточуючої тканини. У них спостерігали загибель лімфоїдних клітин до повного їх зникнення з оголенням строми. На чотирнадцяту добу до вищезазначених змін додавалась інтенсивна делімфотизація дифузної лімфоїдної тканини.

Скупчення лімфоїдної тканини спостерігали лише в окремих ділянках не великих за розміром. Таким чином як у селезінці, так і в сліпо-кишковому мигдалику, починаючи з сьомої доби після зараження вірусом, спостерігали ознаки пригнічення морфофункціонального стану: зменшення кількості та розмірів периартеріальних лімфоїдних муфт та ретикулярних муфт, делімфотизація дифузної лімфоїдної тканини та лімфатичних вузликів до повного їх

зникнення. Зниження кількості клітин відбувалося як в Т- так і В-залежних зонах органів. Це свідчить про пригнічення як клітинної, так і гуморальної ланки імунітету після введення вірусу грипу птиці.

У результаті гістологічного дослідження трахеї було встановлено зміни структури вже на третю добу після зараження. Більшість епітеліоцитів мала характерну будову: виразно виділялися війки, клітини зберігали полярність, ядра локалізувались біля базальної мембрани, секреція помірна. Судини не розширені, крововиливи відсутні. Власне слизова помірно інфільтрована лімфоцитами. Проте в окремих ділянках спостерігали руйнування епітелію і, зокрема, келихоподібних клітин. У просвіті трахеї знаходились десквамовані клітини, еритроцити.

На сьому добу патологічні зміни у трахеї посилювались. Спостерігали розширені та переповнені кров'ю капіляри. Навколо них скупчення лімфоцитів. Слизова оболонка потовщувалась. Зазнавали змін і епітеліальні клітини (рис 1, 2).

Крім того, спостерігали набряк та потовщення слизової оболонки. В окремих ділянках формування великих багатоядерних синцитіальних клітин.

Особливо виражені та характерні зміни структури трахеї спостерігались на десятю добу. Відзначали тотальне ураження слизової оболонки, характерне для запального процесу. Судини були розширені, надмірно переповнені кров'ю, спостерігали численні крововиливи. Відзначали інтенсивне ураження епітеліального шару, який на більшій площі слизової був повністю зруйнований.

Характерним було формування значної кількості синцитіальних клітин з великими ядрами. Вони спостерігались і у просвіті трахеї.

У просвіті трахеї містився ексудат з десквамованими клітинами, еритроцитами і лейкоцитами. Спостерігалось повне руйнування епітеліального шару з оголенням підслизової основи. В таких ділянках капіляри локалізувались на поверхні слизової оболонки близько до просвіту трахеї. Слизова оболонка була інтенсивно інфільтрована клітинами, характерними для запального процесу.

На чотирнадцяту добу після зараження на великих ділянках спостерігали слизову оболонку повністю позбавлену епітеліального шару. Власне слизова була інтенсивно інфільтрована мононуклеарами. Розширених судин та інтенсивних крововиливів як на десятю добу не виявлено. Таким чином, у результаті гістологічного дослідження трахеї були встановлені патологічні зміни починаючи з третьої доби, а до чотирнадцятої доби спостерігали поступове їх посилення.

У результаті гістологічного дослідження бурси Фабриціуса встановлено, що на 3-ю добу після зараження фолікули мали полігональну форму. Кіркова речовина була широкою. Мозкова речовина щільно заповнена лімфоїдними клітинами. Гермінативна зона була вираженою. Епітеліальний шар слизової оболонки западин не утворював, але й не був напружений. Епітеліальні клітини розташовувались у кілька рядів. На 5-ту добу в фолікулах спостерігали морфологічну активізацію гермінативного шару, який у порівнянні з 3-ю добою містив більшу кількість клітин. Як у попередній строк дослідження гістологічна будова бурси Фабриціуса відповідала активно функціонуючому органу. На 7-у добу у фолікулах відзначалось збільшення кількості плазматичних клітин, середніх і зрілих лімфоцитів. Гермінативна зона була вираженою і щільно заповнена лімфоїдними клітинами. Загалом у кірковій, а особливо у мозковій речовинах імунокомпетентні клітини локалізувались менш щільно, ніж на 5-у добу. Кіркова речовина у частини фолікулів утворює розширення, але у порівнянні з попереднім дослідженням ширина її зменшувалась. Загалом на 7-у добу морфометричні показники основних структур органу дещо знижувались: зменшувалась ширина кіркової речовини, щільність розташування клітин у мозковій речовині, розмір фолікулів; але поряд з цим відзначались ознаки активізації імунної відповіді на введення

антигену — збільшення кількості плазматичних клітин та зрілих лімфоцитів, виражений гермінативний шар.

На 10-ту добу після зараження фолікули мали полігональну форму, епітеліальний шар западин не утворював. Спостерігали велику кількість плазматичних клітин. Кіркова речовина широка, утворює потовщення та у порівнянні з попереднім терміном дослідження була більш морфологічно активна. Мозкова речовина заповнене клітинами не досить щільно. Починаючи з 10-ї доби у клоакальній сумці відзначали розширені та переповнені форменими елементами крові капіляри як у самих фолікулах, так і сполучній тканині, а також підепітеліальному шарі. Гістоморфологічний стан клоакальної сумки на 14-у добу був такий як на 10-ту. Спостерігались розширені та переповнені судини. Фолікули полігональної форми, кіркова речовина утворювала розширення та щільно заповнена лімфоцитами.

На 3-ю та 5-ту доби після зараження встановлено, що гістологічна будова легень відповідала нормі. На 7-у добу після зараження у бронхах середнього та великого діаметру у власне слизовій спостерігали дифузні агрегати лімфоїдних клітин та сформовані лімфатичні вузлики. Кровоносні судини у власне слизовій таких бронхів розширені та переповнені форменими елементами крові. Епітеліальний шар без змін. На 10-ту добу крупні бронхи містили ексудат, еритроцити та епітеліальні клітини. На 14-ту добу спостерігали ознаки ураження крупних і середніх бронхів.

Судини розширені, переповнені кров'ю, спостерігали крововиливи, набряки. Епітелій дистрофований. Відзначали інтенсивну інфільтрацію власне слизової мононуклеарами. Паренхіма легень інфільтрована лімфоїдними клітинами.

У інфікованих курчат, яким було введено рослинний препарат «Вітастим», гістологічна будова бурси Фабриціуса протягом часу дослідження відповідала нормі. На 7-у–14-у добу морфофункціональний стан органу був більш активний, ніж на 1-у–5-у.

У результаті дослідження гістологічної будови бурси Фабриціуса встановлено, що у курчат морфометричний потенціал фолікулів зростав з  $111,533 \pm 9,57$  на 1-у добу до  $122,847 \pm 6,93$  на 7-у, і збільшувався до кінця строку спостережень на 21-у добу, коли морфометричний потенціал фолікулів досягав максимального значення  $181,185 \pm 0,83$  мкм. Більшість морфометричних показників бурси Фабриціуса, а саме розмір фолікулів, ширина кіркової речовини та морфометричний потенціал, були не значно вищими у курчат контрольної групи. Фолікули бурси Фабриціуса курчат обох груп мали полігональну форму, мозкова та кіркова речовини були заповнені лімфоїдними клітинами не досить щільно. Гермінативний шар фолікулів не виражений. Кіркова речовина фолікулів курчат дещо ширша, ніж у контролі і становила на 1-у добу ( $57,93 \pm 2,39$ ) мкм ( $56,8 \pm 0,77$ ) мкм у контролі), а на 3-ю – ( $58,55 \pm 1,34$ ) мкм ( $57,99 \pm 3,32$ ) мкм у контролі. На кінець спостережень цей показник дорівнював ( $99,15 \pm 4,48$ ) мкм проти ( $93,72 \pm 11,78$ ) мкм у контрольній групі. Кіркова речовина утворювала численні розширення. Епітеліальний шар складок багаторядний циліндричний, не напружений. Добре помітні устя фолікулів.

У селезінці курчат 1-ї групи спостерігалися більш виражені та численні периартеріальні лімфоїдні муфти, зокрема на 1-у, 3-у, 7-у, 10-ту і 14-ту доби. Так ширина периартеріальних лімфоїдних муфт на 5-у добу становила ( $85,47 \pm 6,13$ ) мкм при ( $65,63 \pm 4,82$ ) мкм у контролі, на 7-у добу збільшувалася до ( $96,50 \pm 9,09$ ) мкм при ( $70,31 \pm 2,19$ ) мкм у контролі. Також відзначали відповідні закономірності зміни відносної площі білої пульпи. На 1-у добу вона становила ( $29,16 \pm 0,96$ ) % від загальної площі зрізу (у контролі ( $26,44 \pm 0,52$ ) %), на 5-у добу вона зростала до  $31,47 \pm 2,89$  % ( $28,77 \pm 3,09$ ) % у контролі), на 7-у - дорівнювала ( $39,52 \pm 0,47$ ) % при ( $34,94 \pm 1,10$ ) % у контролі. На 21-у добу спостерігали збільшення розмірів лімфоїдних вузликів з максимальним показником до ( $163,122 \pm 22,58$ ) мкм при ( $154,153 \pm 22,01$ ) мкм у контролі).

На 3-ю добу після зараження у селезінці лімфатичні вузлики розташовані головним чином біля судин, їх розмір складав ( $56,82 \pm 6,01$ ) мкм при ( $59,14 \pm 1,11$ ) мкм — у контролі.

Периартеріальні лімфоїдні муфти численні, заповнені клітинами досить щільно. На 5-у добу спостережень у селезінці кількість лімфатичних вузликів значно збільшена, вони щільно заповнені клітинами типу лімфобластів і плазмоцитів (рис. 3).

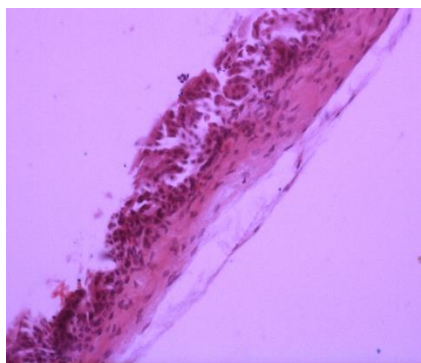


Рис. 1. Трахея курчат на 7-у добу після зараження ВНПГ. Руйнування та десквамация епітелію. Г+Е. х 200

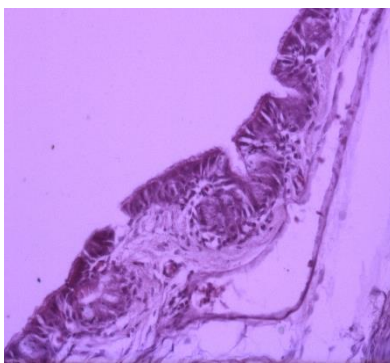


Рис. 2. Трахея курчат у нормі Г+Е. х 200

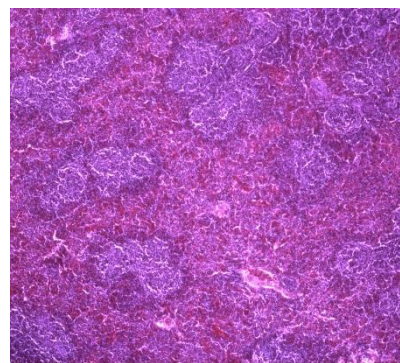


Рис. 3. Збільшення розмірів ПЛІМ у селезінці курчат на 5-у добу після зараження та введення препарату «Вітастим» Г+Е, ×50

На 7-у добу досліджень відзначалося деяке зменшення кількості лімфатичних вузликів, периартеріальні лімфоїдні муфти дещо збільшені у розмірі у порівнянні з попередніми днями спостережень –  $(68,29 \pm 8,00)$  мкм.

Морфофункціональний стан селезінки на 10-у добу також дещо зростав, проте був все ж нижчим за контрольну групу ( $71,44 \pm 6,90$ ) мкм при ( $75,06 \pm 1,00$ ) мкм — у контролі). На 14-у добу периартеріальні лімфоїдні муфти не численні, заповнені клітинами не щільно, на 21-у добу спостережень кількість їх зменшувалася, заповнені клітинами не досить щільно.

У результаті дослідження гістологічної структури трахеї курчат 1-ї групи встановлено, що епітеліальний шар слизової оболонки утворений багаторядним миготливим епітелієм з добре помітними миготливими війками. Відзначалася велика кількість келихоподібних клітин, секреція помірна. У власному шарі слизової рідко спостерігалися невеликі за розміром лімфоїдні утворення. Ознак запалення чи руйнування в обох групах не виявлено. На 3-ю добу у трахеї окремі ділянки слизової із порушеною цілісністю епітеліального шару. Епітелій десквамований. В інших ділянках на поверхні епітеліального шару спостерігали екссудат з десквамованими клітинами. Секреція келихоподібних клітин посилена. Кількість келихоподібних клітин зменшена. У власне слизовій оболонці збільшена кількість лімфоїдних клітин. На 21-добу спостережень гістологічна будова трахеї відповідала нормі.

Гістологічна будова легень відповідала нормі. У стінці парабронхів іноді виявляли скупчення лімфоїдних клітин. Структура бронхіол відповідала нормі. На 10-у добу в обох групах відзначалися ділянки легеневої тканини, в яких була збільшена кількість ретикулярних клітин, макрофагів і лімфоцитів.

Сліпо-кишковий мигдалик був представлений дифузно розташованими лімфоцитами, макрофагами та лімфатичними вузликами і передвузликами. На 1-у добу у площині поперечного зрізу сліпо-кишкового мигдалика курчат налічувалося 14 лімфатичних вузликів розміром  $(177,887 \pm 3,6)$  мкм при контролі  $8,33 \pm 1,45$  мкм.

## ВИСНОВКИ

Суттєві патоморфологічні зміни у внутрішніх органах курчат за низькопатогенного грипу птиці спостерігалися у трахеї (ділянки катарального запалення, на що вказували набряки власне слизової, розширення та надмірне кровонаповнення судин, руйнування епітелію, екссудат у просвіті) та легенях (набряки навколо судин, біля судин малого діаметру збільшена

кількість лімфоїдних клітин). Рослинний препарат з імуностимулюючими властивостями «Вітастим» значно підвищує рівень імунного захисту у курчат, інфікованих вірусом низькопатогенного грипу птиці, про що свідчило збільшення кількості периартеріальних лімфоїдних муфт у селезінці, зростання морфометричного потенціалу фолікулів бурси Фабриціуса, велика кількість велика кількість келихоподібних клітин у трахеї. Встановлено ефективність застосування цього препарату з метою стимуляції імунного стану інфікованої птиці, що дозволяє рекомендувати його для серійного виробництва.

**Перспективи подальших досліджень.** Проведені дослідження свідчать про необхідність дослідження на клітинному та молекулярному рівні ефективності імуностимуляції організму сільськогосподарської птиці рослинними препаратами. Крім того доцільним є розробка високоефективних безпечних методів контролю економічно важливих захворювань птиці.

### **STUDYING THE INFLUENCE OF PHYTONUTRIENT "VITASTYM" WITH IMMUNOSTIMULATING PROPERTIES ON CHICKEN INFECTED WITH LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA VIRUS**

*Gennadiy Krasnikov, Pavlo Shutchenko, Denys Muzyka, Larysa Kovalenko,  
Olga Obukhovska, Kateryna Medvid*

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

#### **S U M M A R Y**

As a result of patho-morphological studies the effect of the phytonutrient "Vitastym" with immune-stimulating properties on chickens experimentally infected with low pathological avian influenza virus A/martyn/Ukrayina/2007 N13N5 it was found that this preparation is more actively influence on the humoral immune response, as evidenced by more intense form and accumulation of B cells producing immunoglobulins. When the study immune organ status at low pathological avian influenza it was established significant patho-morphological changes in the trachea (areas of catarrhal inflammation, enlargement and excessive blood supply vessels, destruction of epithelial, fluid in the lumen) and lungs (edema around vessels, increased number of lymphoid cells near the small diameter vessels).

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА С ИМУНОСТИМУЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ «ВИТАСТИМ» НА ОРГАНИЗМ ЦЫПЛЯТ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ НИЗКОПАТОГЕННОГО ГРИППА**

*Г. А. Красников, П. А. Шутченко, Д. В. Музыка, Л. В. Коваленко,  
О. В. Обуховская, Е. А. Медведь*

ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»

#### **А Н Н О Т А Ц И Я**

По результатам патоморфологических исследований влияния растительного препарата с имуностимулирующими свойствами «Витасти́м» на организм цыплят, экспериментально инфицированных вирусом низкопатогенного гриппа А/мартин/Украина/2007 Н13N5, установлено, что данный препарат более активно влияет на клеточное звено иммунного ответа, что подтверждается более интенсивным образованием и накоплением В-лимфоцитов,

продуцирующих иммуноглобулины. При исследовании состояния иммунокомпетентных органов при низкопатогенном гриппе птиц установлены существенные патоморфологические изменения в трахее (участки катарального воспаления, на что указывали отеки собственно слизистой, расширение и чрезмерное кровенаполнение сосудов, разрушение эпителия, экссудат в просвете) и легких (отеки вокруг сосудов, увеличенное количество лимфоидных клеток около сосудов малого диаметра).

#### Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Immunostimulatory effects of oriental plum (*Prunus salicina* Lindl.) [Text] / Sung-Hyen Lee [et al.] // Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. — 2009. — Vol. 32. — P. 407–417.
2. Immune enhancing properties of Safflower leaf (*Carthamus tonctorius*) on chicken lymphocytes and macrophages [Text] / Sung-Hyen Lee [et al.] // J. Poultry Sci. — 2008. — Vol. 45. — P. 147–151.
3. In vitro effects of methanol extracts of Korean medicinal fruits (persimmon, raspberry, tomato) on chicken lymphocytes, macrophages, and tumor cells [Text] / S. H. Lee [et al.] // J. Poultry Sci. — 2009. — Vol. 46. — P. 149–154.
4. Qureshi, M. A. Avian macrophage and immune response: an overview [Text] / M. A. Qureshi // Poultry Sci. — 2003. — Vol. 82. — P. 691–698.
5. Горальский Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології [Текст] : навч. посіб. / Л. П. Горальский, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. — Житомир: Полісся, 2005. — 288 с.
6. Красников Г. А. Методические рекомендации по гистоморфологической оценке иммунокомпетентных органов цыплят в норме и при иммунодефицитах [Текст] / Г. А. Красников, Н. Г. Колоусова ; УНИИЭВ. — Х., 1989. — 20 с.
7. Руководство пользователя программы ВідеоТесТ-Морфологія 5.1 [Текст]. — СПб., 2009. — 336 с.