

на їхній території. Напрямок росту волокон у складі пучка Гіса залежить від вектора розповсюдження нервових волокон у між шлуночкові перегородці. Клітини волокон Пуркінє експресують нейрегулін, який паракринним способом регулює розвиток нервової системи.

**Ключові слова:** провідна система серця, кардіоміоцити, нейрофіламенти, нейрегулін, ембріон людини.

Стаття надійшла 12.04.2013 р.

distribution of nerve fibers in the interventricular septum. Purkinje fibers express neuregulin that paracrine way regulates of the heart's nervous system development.

**Key words:** conductive system, heart, cardiomyocytes, neurofilaments, neuregulin, human embryo.

Рецензент Костиленко Ю.П.

УДК 576.31:616.12:57.043:612.018

Т.В. Шканд<sup>1</sup>, Н.А. Чиж<sup>1</sup>, О.В. Наумова<sup>2</sup>, Б.П. Сандомирский<sup>1</sup>  
 Інститут проблем криобіології та криомедицини НАН України, Харківський національний  
 медичний університет, м. Харків

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕРДЦА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕКРОЗА МИОКАРДА

Для правильного понимания патогенетических механизмов некроза миокарда, разработки методов профилактики и лечения необходимо его экспериментальное исследование на различных моделях. В статье представлена динамика морфологических изменений в миокарде после криовоздействия на сердце в течение 15 и 30 с, перевязки левой коронарной артерии и введения токсических доз адреналина.

Установлено, что криовоздействие на сердце приводило к появлению некротической зоны в миокарде без ишемической фазы воспаления, при этом глубина поражения сердечной мышцы напрямую зависела от длительности криовоздействия. Перевязка коронарной артерии способствовала формированию ишемического некроза миокарда в зоне бассейна лигированного сосуда с ярко выраженными дисциркуляторными нарушениями. Очаговое поражение миокарда, возникающее после введения токсических доз адреналина, было сосредоточено вокруг артериальных сосудов, что в последствие приводило к периартериальной пролиферации фибробластов и формированию грануляционной ткани.

**Ключевые слова:** сердце, криовоздействие, некроз, адреналин, репарация.

*Робота являється фрагментом НІР в ІПКіК НАН України согласно темы №72 «Влиив низьких температур та екстрактів серця і селезінки на процеси невротизації і регенерації міокарду, судин хряща», Державний реєстраційний номер теми 0112U003133.*

Распространенность сердечнососудистых заболеваний по данным популяционных исследований неуклонно растет [2, 4, 7]. Инфаркт миокарда (ИМ) является одним из грозных осложнений ИБС, которое приводит к инвалидизации и смертности населения 4, 7, 8]. Это диктует необходимость дальнейшего изучения механизмов развития данной патологии с целью улучшения профилактики и лечения ИМ. Для этого исследования по изучению патогенеза и протекания ИМ должны базироваться на адекватных экспериментальных моделях.

Различия в механизмах повреждения и гибели кардиомиоцитов при разных видах неблагоприятных воздействий обуславливают неодинаковый характер реактивных изменений со стороны паренхимы и стромы миокарда [3, 9]. Несмотря на внимание исследователей к проблеме репаративной регенерации миокарда при его очаговых поражениях, ряд аспектов этой проблемы, в частности, касающихся особенностей паренхиматозно-стромальных взаимоотношений, остается недостаточно изученным.

**Целью** работы было изучение морфологических особенностей развития некроза и ремоделирования сердца после повреждения миокарда на моделях механической перевязки левой коронарной артерии, крионекроза сердечной мышцы и токсического воздействия на миокард адреналином.

**Материал и методы исследования.** В работе использовали 105 белых половозрелых беспородных крыс массой 200-250 г. Оперативные вмешательства проводили под эфирным ингаляционным наркозом на спонтанном дыхании. Ишемический некроз миокарда (ИМ) моделировали путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии проленовой нитью №6.0 на границе верхней и средней трети сосуда [1]. Криовоздействие на стенку левого желудочка производили азотным инструментом с диаметром аппликатора 3мм при температуре рабочей поверхности аппликатора – 195° С [6]. Для формирования токсического поражения миокарда подкожно вводили адреналин в дозе 0,5мг/100г животного с предварительной инъекцией кетамина (3,25мг/100г животного) внутривентриально [5]. Методом случайной выборки экспериментальные животные были разделены на 4 группы (табл. 1).

Таблица №1

**Распределение экспериментальных животных по группам**

Группы	Кол-во животных
1 группа – Норма (интактные) Контроль	5
2 группа подгруппа А – Криодеструкция 15 с	25
2 группа подгруппа Б – Криодеструкция 30 с	25
3 группа – Перевязка коронарной артерии	25
4 группа – Введение адреналина	25

Из эксперимента животных выводили через 1 час, на 1-е, 7-е, 14-е и 30-е сутки путем декапитации под наркозом согласно принципам биоэтики, изложенных в Хельсинской декларации и Законе Украине «О защите животных от жестокого отношения» (N 1759 VI от 15.12.2009).

Морфологические исследования сердца проводили по гистологическим срезам методом световой микроскопии. Для этого образцы тканей (левого желудочка сердца) фиксировали в 10% нейтральном формалине с последующей проводкой и заливкой в парафин. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали пикрофуксином по ванн Гизон, а так же гематоксилин-эозином. Затем образцы исследовали с помощью микроскопа MT 4000 Series Biological Microscope с программным обеспечением для анализа изображений «BioVisionVersion 4.0». При морфологическом исследовании визуально оценивали стромально-кардиомиоцитарное состояние гистологических образцов тканей (форму кардиомиоцитов, диаметр просвета сосудов, их кровенаполнение и состояние периваскулярных интерстициальных пространств).

**Результаты исследования и их обсуждение.** При микроскопическом исследовании эндокард левого желудочка сердца у интактных животных выстлан уплощенной формы эндотелиоцитами с вытянутым умеренно окрашиваемым гематоксилином ядром и умеренно базофильной цитоплазмой (рис. 1).

Подэндотелиальный слой при окраске пикрофуксином по ванн Гизон представлен умеренно фуксинофильными коллагеновыми волокнами. На границе с миокардом соединительнотканые волокна утолщены, между ними обнаруживаются немногочисленные сосуды капиллярного типа.

Миокард образован группами кардиомиоцитов, формирующих мышечные волокна. На гистологических срезах сократительные кардиомиоциты изображены в виде клеток с умеренно окрашиваемым гематоксилином палочковидным ядром на фоне эозинофильной цитоплазмы с хорошо контурируемым рисунком миофибрилл. В строме заложены сосуды разного калибра. Интрамуральные артерии среднего и мелкого калибра умеренно кровенаполнены. Выстилающий их эндотелий несколько уплощен, его цитоплазма слабо базофильна, ядра вытянутые. Артериолы извитые, с небольшим количеством эритроцитов, эндотелиоциты располагались на некотором расстоянии друг от друга, ядра их эухромные, базофильные. Вены и венулы умеренно извиты, расширены, полнокровны; ядра эндотелиоцитов также четкие, эухромные. Капилляры незначительно расширены извиты, полнокровны.

Эпикард сращен с миокардом и представлен тонкой соединительно-тканной пластинкой, покрытой мезотелием и состоящей из переплетающихся умеренно фуксинофильных коллагеновых волокон и тонких эластических волокон.

При микроскопическом изучении препаратов сердца крыс 2-А исследуемой группы через 1 час после криовоздействия в течение 15 сек отмечали развитие некротических изменений в структурных компонентах миокарда, отграниченных субэпикардальным отделом (рис. 2).

Кардиомиоциты в зоне крионекроза истончены, дефрагментированы со слабо эозинофильной гомогенной цитоплазмой и пикнотичными слабо базофильными ядрами. Просветы сосудов расширены и содержали гемолизированную кровь в виде эозинофильных зернистых масс. Между фрагментами мышечных волокон и вокруг сосудов при окраске пикрофуксином по ванн Гизон обнаруживались обрывки тонких слабо фуксинофильных коллагеновых волокон.

Через сутки после криовоздействия на сердце визуализировалась зона некроза миокарда, представленная эозинофильными фрагментами безъядерных кардиомиоцитов. В просвете сосудов определялись эозинофильные зернистые массы, эритроциты в виде «теней», многочисленные лейкоциты с выходом в периваскулярное пространство. По направлению к периферии зоны некроза количество лейкоцитов нарастало, формировалась зона перифокального воспаления, появлялись макрофаги, фибробласты. В отдаленных зонах миокарда наблюдался умеренно выраженный отек стромы.

На 7-е сутки деструктивные процессы уступали место репаративным. К этому сроку в зоне крионекроза была сформирована грануляционная ткань. В прилежащей к ней ткани отмечали гипертрофию кардиомиоцитов с крупными базофильными ядрами и слабо или умеренно эозинофильной цитоплазмой, в которой четко визуализировался рисунок миофибрилл.

На 14-е сутки продолжался репаративный процесс. В поверхностных отделах регенераторный пласт был менее зрелый, в нем фиксировали больше недифференцированных тонкостенных сосудов, выстланных сочными эндотелиоцитами, встречались многочисленные нейтрофильные лейкоциты. Соединительнотканые волокна, выявляемые при окраске по ванн Гизон, были тонкие, нежные и расположены без определенной ориентации. По направлению к периферии зоны регенерата количество сосудов уменьшалось, часть из них заустевала (просвет заполняется тонкими коллагеновыми волокнами, между ними определялись многочисленные фибробласты), в других появлялись признаки дифференцировки на артериальные и венозные.

На 30-е сутки эксперимента зона регенерата была представлена неправильной формы пластом соединительной ткани различной степени зрелости, состоящей преимущественно из параллельно фуксинофильных пучков коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности стенки сердца. Между волокнами встречались фибробласты, фиброциты, единичные сосуды с дифференцировкой на артериальные и венозные. В прилежащем миокарде отмечали гипертрофию кардиомиоцитов, неравномерно выраженную эозинофилию цитоплазмы, четкий рисунок миофибрилл, укрупнение ядер. Кардиомиоциты отдаленных отделов миокарда обычных размеров с эозинофильной цитоплазмой и базофильным палочковидным ядром. Поперечная исчерченность была слабо выражена.

Данные микроскопического исследования препаратов сердца крыс 2-Б группы показали, что через час после криовоздействия в течение 30 с во всех структурных компонентах стенки сердца развивались деструктивные изменения. В препаратах сердца отмечали появление участка повреждения субэпикардального и

интрамурального отделов миокарда, занимающего около 1/2-2/3 толщины передней стенки левого желудочка. Стенки интрамуральных сосудов всех калибров с тотальным, реже фокальным фибриноидным некрозом, в части сосудов полностью разрушены. Перифокально по отношению к зоне некроза пространства между группами кардиомиоцитов расширены и выглядели оптически пустыми.

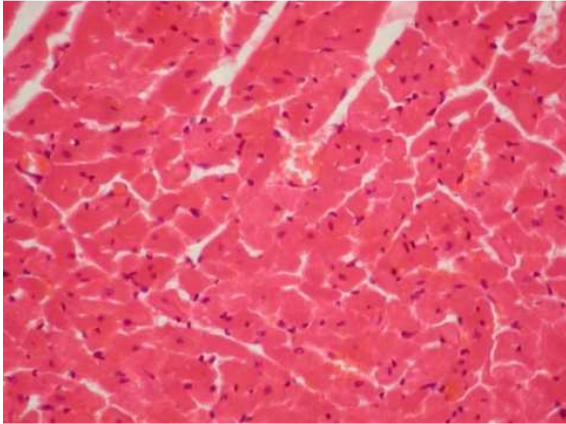


Рис. 1. Миокард интактной крысы. Группы мышечных волокон миокарда, анастомозирующие друг с другом, нерезко выраженный отек стромы, полнокровие венозных сосудов и капилляров. Окр. г.-э., x400.

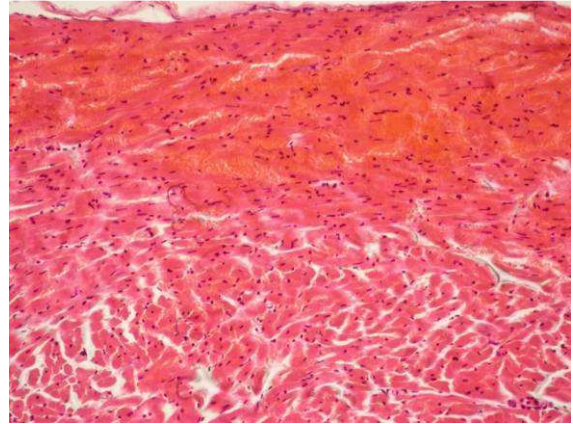


Рис. 2. Миокард крысы после криовоздействия на сердце в течение 15 с. Через 1 час. Зона некроза с прилегающими отделами миокарда. Окр. г.-э., x200.

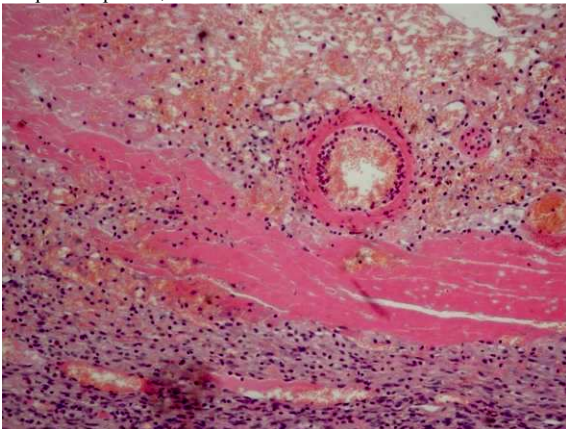


Рис. 3. Миокард крысы после криовоздействия на сердце в течение 30 с. 7-е сут. Зона некроза перифокального клеточного вала. Погибшие мышечные волокна, фибриноидный некроз стенки артерии с краевым стоянием лейкоцитов в просвете. Окр. г.-э., x200.

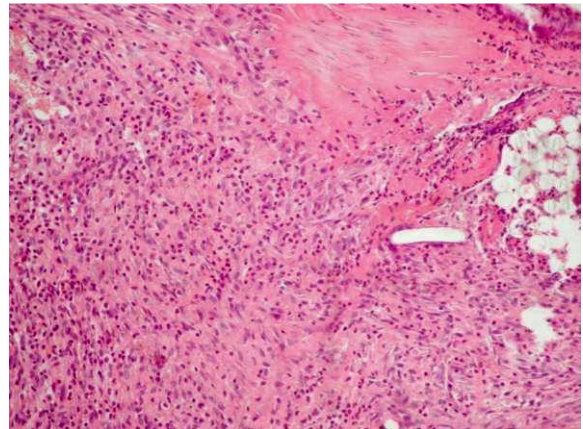


Рис. 4. Миокард крысы после перевязки левой коронарной артерии. 7-е сут. Участки некротизированной мышечной и жировой ткани с перифокальным воспалением. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

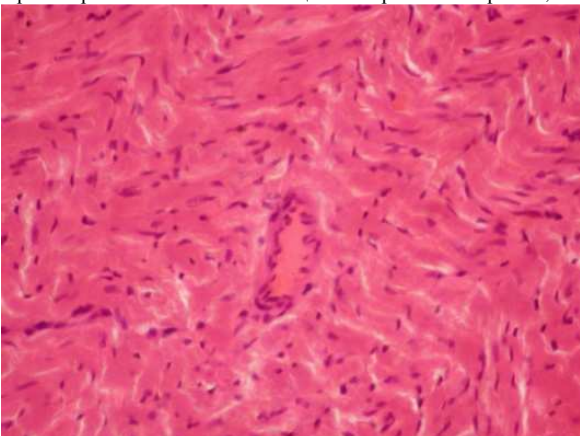


Рис. 5. Миокард крысы после токсического действия на сердце адренином. 1 час. Расположение эндотелиоцитов в виде частокола, очаговая их десквамация в интрамуральной артерии мелкого калибра. Окр. г.-э., x200.

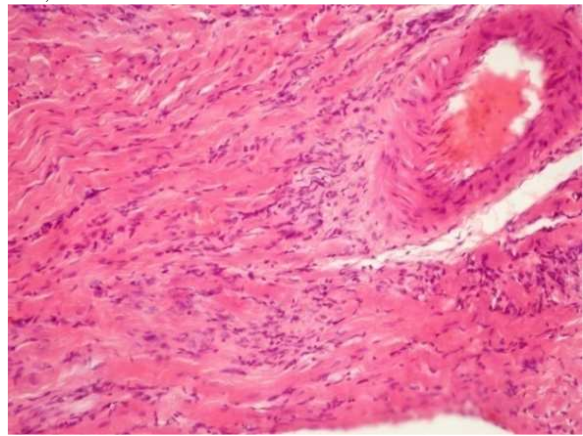


Рис. 6. Миокард крысы после токсического действия на сердце адренином. 14-е сут. Гнездовая пролиферация фибробластов. Островки грануляционной ткани в периартериальном и межмышечных пространствах. Окр. г.-э., x200.

Спустя сутки после криовоздействия в течение 30 с интенсивность деструктивных изменений нарастала. Зона повреждения представлена тканевым детритом из гомогенизированных слабо эозинофильных обрывков безъядерных мышечных волокон. Среди некротических масс определяли немногочисленные полиморфно-клеточные лейкоциты и хаотически разбросанные скопления базофильных осколков их ядер. По направлению к периферии очага поражения количество полиморфно-ядерных лейкоцитов нарастало, встречались немногочисленные макрофаги.

К 7-м суткам наряду с деструктивными изменениями в сердце обнаруживали признаки репаративного процесса в виде начинающейся макрофагальной резорбции некротических масс и формирования широкого вала из пролиферирующих фибробластов вокруг зоны некроза (рис. 3).

К 14-м суткам преобладали процессы репарации – в большинстве наблюдений закончен процесс очищения зоны повреждения от некротических масс и сформирована грануляционная ткань; прилежащие кардиомиоциты подвергались гипертрофии. К 30-м суткам регенерат характеризовался неравномерным фиброзированием, в прилежащем миокарде развивалась компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов с избыточным развитием межмышечной и периваскулярной стромы. Данные микроскопического исследования в динамике препаратов сердца крыс после криовоздействия в течение 15 и 30 с показали, что масштабность и степень повреждения миокарда животных находятся в зависимости от длительности криовоздействия, однако длительность репаративных процессов происходит в одни и те же сроки минуя фазу ишемического повреждения.

В 3-ей экспериментальной группе спустя час после перевязки левой коронарной артерии в миокарде наблюдали изменения преимущественно дисциркуляторного характера в виде отека стромы, полнокровия венозных сосудов и капилляров с выходом плазмы и форменных элементов за пределы сосудистой стенки. Поперечная исчерченность мышечных волокон была смазана, а рисунок миофибрилл – нечеткий. Межмышечные и периваскулярные пространства неравномерно расширены. В отдаленных участках миокарда отек стромы был менее выражен. Через сутки наряду с расстройствами кровообращения в зоне бассейна перевязанного сосуда наблюдали выраженные деструктивные изменения. Поперечная исчерченность в сократительных кардиомиоцитах не определялась. Мышечные клетки, формирующие мышечные волокна, были набухшими с выраженной эозинофилией цитоплазмы, базофильными пикнотичными ядрами. Периваскулярные пространства расширены, отмечалась очаговая десквамация эндотелия с начинающейся нейтрофильной лейкоцитарной инфильтрацией.

Микроскопически на 7-е сутки в зоне повреждения, преимущественно, в центральных отделах определяли очаги разрушенных безъядерных кардиомиоцитов с набухшей гомогенной эозинофильной цитоплазмой. Зона инфаркта окружена широким клеточным валом из нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов, фибробластов. Изредка встречались новообразованные полнокровные сосуды с тонкой слабо фуксинофильной стенкой (рис. 4).

В зоне инфаркта миокарда к 14-м суткам наблюдали преобладание репаративной регенерации над деструктивными процессами. К этому сроку исчезла лейкоцитарная инфильтрация, и на месте погибших кардиомиоцитов формировалась рыхлая хорошо васкуляризованная грануляционная ткань, в структуре которой определялись нежные слабо фуксинофильные соединительнотканые волокна с большим количеством гистиоцитов и фибробластов. В прилежащей к этой зоне группах кардиомиоцитов, отмечали компенсаторную гипертрофию.

На 30-е сутки эксперимента зона инфаркта замещена соединительной тканью различной степени зрелости, которая в виде конуса вдавалась в относительно не поврежденный миокард. Между соединительнотканых волокон определяли преимущественно фибробласты и фиброциты. Вновь образованные сосуды к этому сроку приобретали дифференцировку на артериальные и венозные. На периферических участках от инфаркта, кардиомиоциты имели средние приблизительно одинаковые размеры с эозинофильной цитоплазмой и базофильным палочковидным ядром, поперечная исчерченность была слабо выражена. Сосуды всех калибров умеренно полнокровны, эндотелий уплощен с умеренно базофильным ядром и светлой цитоплазмой. На гистологических препаратах миокарда крыс после перевязки левой коронарной артерии в зоне бассейна перевязанного сосуда определяли деструкцию паренхиматозно-стромальных компонентов миокарда с ярко выраженными дисциркуляторными нарушениями, при этом процесс формирования соединительнотканного рубца завершался в более поздние сроки, чем после криовоздействия на сердце.

Данные микроскопического исследования препаратов сердца крыс 4-ой исследуемой группы показали, что спустя час после введения адреналина, в миокарде всех отделов сердца отмечался выраженный спазм артериальных сосудов. Просвет артерий был сужен, имел звездчатое очертание. Эндотелиоциты очагово десквамированы и представлены в виде частокола. Венозные сосуды полнокровны. Капилляры паретически расширены, полнокровны. В разных отделах миокарда встречались участки волнистого строения кардиомиоцитов (рис. 5). Через сутки спазм сменялся парезом артериальных сосудов. На срезах наблюдали не только выраженные очаговые деструктивные изменения в кардиомиоцитах и сосудах (пикноз ядер кардиомиоцитов и эндотелиоцитов, очаговая десквамация эндотелия сосудов), но и регистрировали миграцию лейкоцитов за пределы сосудистой стенки. К 7-м суткам эксперимента на срезах обнаруживали признаки репаративного процесса в виде макрофагальной резорбции, которой подвергались некротизированные кардиомиоциты. Группы безъядерных кардиомиоцитов были окружены макрофагами, фибробластами, немногочисленными полиморфноядерными лейкоцитами. В периартериальных пространствах наблюдали очаговую пролиферацию фибробластов с формированием очагов рыхлой грануляционной ткани.

На 14-е сутки во всех отделах сердца в межмышечной строме и периваскулярных пространствах наблюдали очагово-диффузную пролиферацию фибробластов. Между многочисленными мелкими островками грануляционной ткани с новообразованными сосудами отмечали неравномерно выраженную гипертрофию неповрежденных кардиомиоцитов. В субэндокардиальных отделах миокарда встречались группы мышечных волокон с признаками колликвационного некроза, характеризующиеся отсутствием в кардиомиоцитах ядра, слабой восприимчивостью цитоплазмы кислых и основных красителей (рис. 6).

На 30-е сутки после введения адреналина по данным микроскопического исследования сердца крыс

выявили более выраженный диффузный межмышечный и периваскулярный кардиосклероз с неравномерно выраженной гипертрофией кардиомиоцитов. Периваскулярные пространства расширены за счет избыточного развития в них фуксинофильных соединительнотканых волокон.

Таким образом, подкожное введение адреналина приводило к очагово-диффузному поражению всех отделов сердца и в финале заканчивалось формированием островков грануляционной ткани в периаортальном и межмышечных пространствах.

#### Заключення

Криодеструкция сердца, перевязка коронарной артерии и введение токсических доз адреналина достоверно приводило к появлению экспериментального некроза миокарда, и ремоделирование сердца протекало по классическому пути: от асептического воспаления до формирования соединительно-тканного рубца с определенными особенностями в каждой группе. Криовоздействие на сердце приводило к появлению некротической зоны в миокарде без ишемической фазы воспаления, при этом глубина поражения сердечной мышцы напрямую зависела от длительности криовоздействия.

После перевязки левой коронарной артерии в зоне бассейна перевязанного сосуда определяли деструкцию миокарда, при этом выраженность дисциркуляторных нарушений выходила на первое место.

Токсические дозы адреналина способствовали возникновению асептического воспаления, которое было сосредоточено вокруг артериальных сосудов, что в последующем приводило к очаговой периаортальной пролиферации фибробластов и формированию грануляционной ткани.

*Перспективы последующих исследований в данном направлении. Анализ морфологических данных различных моделей некроза миокарда предоставляет возможность исследователю выбрать наиболее предпочтительный способ формирования этой патологии в зависимости от поставленных задач.*

#### Литература

1. Бабаева А.Г. Биотехнологические принципы формирования экспериментального некроза миокарда / Бабаева А.Г., Шканд Т.В., Чиж Н.А. [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 11–15.
2. Горбась І.М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія і статистика / І.М. Горбась // Здоров'я України. – 2009. – № 3/1. – С. 34–35.
3. Непомнящих Л.М. Паренхиматозно-стромальные отношения в миокарде: Альтеративная недостаточность кардиомиоцитов и морфогенез очагового кардиосклероза / Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. [и др.] // Бюл. exper. биол. – 2002. – Т. 134, № 8. – С. 219–226.
4. Люсов В.А. Инфаркт миокарда / Люсов В.А., Волов Н.А., Гордеев И.Г. – М.: «Литтерра», 2010. – 240с.
5. Пат. 2286606 Российская Федерация МПК G 09 В 23/28 Способ моделирования очаговых повреждений миокарда / Богородская С. Л., Голубев С.С., Микашова Л.Б.; заявл. 22.03.2005; опубл. 27.10.2006; Бюл. № 50.
6. Слета И.В., Моделирование некроза миокарда с помощью криотехнологии / Слета И.В., Чиж Н.А., Гальченко С.Е. [и др.] // Биотехнология. – 2011. – Т. 4, № 4. – С. 73–79.
7. Boersma E. Acute myocardial infarction / Boersma E. // The Lancet. – 2003. – Vol. 361. – P. 847–858.
8. Mieres J. H. American Heart Association's guidelines for cardiovascular disease prevention in women / Mieres J. H. // Heart. – 2006. – May – P. 92.
9. Swynghedauw B. Molecular Mechanisms of Myocardial Remodeling / Swynghedauw B. // Physiol. Rev. – 1999. – Vol. 79. – P. 215–262.

#### Реферати

##### МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕРЦЯ ШУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕКРОЗУ МІОКАРДА Шканд Т.В., Чиж М.О., Наумова О.В., Сандомирський Б.П.

Для правильного розуміння патогенетичних механізмів некрозу міокарда, розробки методів профілактики і лікування необхідне його експериментальне дослідження на різних моделях. У статті представлена динаміка морфологічних змін в міокарді після кріовтручання на серце протягом 15 і 30 с, перев'язки лівої коронарної артерії і введення токсичних доз адреналіну.

Встановлено, що кріовтручання на серце приводило до появи некротичної зони в міокарді без ішемічної фази запалення, при цьому глибина поразки серцевого м'яза безпосередньо залежала від тривалості кріовтручання. Перев'язка коронарної артерії сприяла формуванню ішемічного некрозу міокарда в зоні басейну лігированої судини з яскраво вираженими дисциркуляторними порушеннями. Вогнещева поразка міокарда, що виникає після введення токсичних доз адреналіну, була зосереджена навколо артеріальних судин, що приводило до периаортальної проліферації фібробластів і формування грануляційної тканини.

**Ключові слова:** серце, кріовтручання, некроз, адреналін, репарація.

##### MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RAT'S HEART AT EXPERIMENTAL MYOCARDIUM NECROSIS Shkand T.V., Chizh N.A., Naumova O.V., Sandomirsky B.P.

To elucidate pathogenetic mechanisms of myocardium necrosis, to develop the preventive and treatment measures its experimental studying in different models is necessary. The paper covers the dynamics of morphological changes in myocardium after cryoeffect in heart for 15 and 30 sec, ligation of left coronary artery and introduction of adrenalin toxic doses.

It has been established that cryoeffect to heart led to the appearance of necrotic zone in myocardium with no ischemic inflammation phase, herewith the depth of cardiac muscle lesion depended directly on cryoeffect duration. The ligation of coronary artery contributed to the formation of ischemic necrosis of myocardium in the zone of ligated vessel basin with manifested discirculatory disorders. Focus lesion of myocardium resulted from the introduction of toxic doses of adrenalin was focused around arterial vessels, which later led to periaortic proliferation of fibroblasts and formation of granulation tissue.

**Key words:** heart, cryoeffect, necrosis, adrenalin, reparation.

Стаття надійшла 28.04.2013 р.

Рецензент Гасюк А.П.