

На правах рукописи

БЕРЕЗНЯК Никита Витальевич

КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БОЛЕЗНИ КРОНА

14.01.17 – хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва–2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре госпитальной хирургии.

Научный руководитель:

Рыбачков Владимир Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии.

Научный консультант:

Хохлов Александр Леонидович, доктор медицинский наук, профессор, член-корреспондент РАН.

Официальные оппоненты:

Горский Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор кафедры экспериментальной и клинической хирургии.

Лобаков Александр Иванович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии.

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится « » 2020 года в__ часов на заседании диссертационного совета (Д 999.052.02) при Федеральном государственном бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО _____ университета и на сайте _____.

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.м.н., профессор
Матвеев Сергей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Болезнь Крона является одним из наименее изученных заболеваний желудочно-кишечного тракта (Fioschi C., 2015; Лобаков А.И. с соавт., 2015; Шулутко А.М., 2016). Болезнь Крона — это хроническое рецидивирующее заболевание желудочно-кишечного тракта неуточненной этиологии, характеризующееся трансмуральным сегментарным распространением воспалительного процесса с развитием местных и системных осложнений. Характеризуется чередованием периодов обострений и ремиссий (Ивашкин В.Т. с соавт., 2017; Парфенов А.И., 2013).

В современном мире общее количество больных, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника, составляет около 5 млн человек (Burisch J. et al., 2015). Причем за последние 20 лет рост заболеваемости болезнью Крона опережает рост заболеваемости язвенным колитом (Ткачев А.В. с соавт., 2012; Рыбачков В.В. с соавт., 2018). Особенно прослеживается тенденция к росту заболеваемости и распространенности заболевания в странах Северной Америки и Северной Европы (Burisch J. et al., 2013; Ponder A. et al., 2013). Однако, по последним данным, заболеваемость также растет и в странах Восточной Европы и Азии (Vegh Z. et al. 2017.; Burisch J. et al., 2014). Наивысший уровень заболеваемости был зарегистрирован в Канаде (20,2 на 100000 человек) (Bernstein C.N. et al., 2006), Северной Европе (10,6 на 100000 человек в Великобритании) (Thompson N.P. et al., 1998) и Австралии (29,3 на 100000 человек) (Wilson J. H.C. et al., 2010).

Данные о заболеваемости и распространенности болезни Крона в Российской Федерации ограничены. В настоящее время, по данным Государственного Научного Центра Колопроктологии, заболеваемость болезнью Крона составляет 0,3 на 100000 человек, а распространенность — 3,5 на 100000 человек. По данным Дурлештер В.М. с соавт. (2018), в 2015 году в России число госпитализированных пациентов с болезнью Крона составило 7687 человек, из них по экстренным показаниям — 30% (2375 пациентов). Летальность при тяжелых формах составила 8,5% (Горский В.А. с соавт., 2016; Дурлештер В.М., 2018).

Патогенез болезни Крона до сих пор находится в стадии активного изучения (Satsangi J., 1998; Satsangi J. et al., 1997; Schmidt C. et al., 2005). По современным представлениям за последнее время большое значение придается наследственным факторам, и в частности генетической предрасположенности (Vermeire S. et al., 2002; Hampe J. et al., 2002; Cuthbert A.P. et al., 2002). Появились данные, согласно которым при болезни Крона могут наблюдаться полиморфизмы гена CARD15/NOD2 (Hugot J-P. et al., 2001; Ogura Y. et al., 2001; Sands B.E et al., 2010). Однако противоречивость подобных утверждений достаточно высока (Ahmad T. et al., 2002; Wang M.H. et al., 2013).

Весьма спорным моментом в настоящее время является уточнение показаний к оперативному вмешательству и его объему. Необходимость хирургического лечения больных с поражением подвздошной кишки возникает в 90% случаев в течение первых

10 лет заболевания (Белоусова Е.А., 2002 г.). Согласно современным рекомендациям при возможности следует прибегнуть к органосохраняющим операциям, а при отсутствии таких возможностей выполнение резекции кишки должно быть ограниченным (Ивашкин В.Т. с соавт., 2017; Strong S.A. et al., 2007).

Довольно неопределенны результаты хирургического и консервативного лечения болезни Крона, особенно в отдаленном периоде, а также прогнозирование течения данной патологии (Петров В.П. с соавт., 2001; Шелапутина И.М., 2009; Sands B.E. et al., 2014; Каграманова с соавт., 2018). Отсутствие необходимых критериев в этом плане не позволяет своевременно проводить упреждающую превентивную терапию с целью профилактики рецидива заболевания. Безусловно, это накладывает определенный отпечаток на качество жизни пациентов со всеми вытекающими последствиями (Rutgeerts P. et al., 1990; Loftus Jr.E.V., 2004; Kostrejev M., 2016).

Изложенное выше свидетельствует об актуальности и клинической значимости проблемы. Отмеченные моменты явились отправными для проведения настоящего исследования.

Цель исследования

Улучшить результаты лечения пациентов с болезнью Крона.

Задачи исследования

1. Изучить частоту клинических проявлений в острой стадии болезни Крона в зависимости от локализации патологического процесса.
2. Изучить состояние вегетативной нервной системы при болезни Крона и ее влияние на течение заболевания.
3. Изучить клиническую значимость частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2 при данной патологии.
4. Изучить ближайшие и отдаленные результаты хирургического и консервативного лечения болезни Крона.
5. Выявить критерии для прогнозирования течения болезни Крона.

Научная новизна

1. Установлено, что прогрессирование болезни Крона сопровождается повышением симпатической активности. Выраженность отклонений определяется локализацией патологического процесса и более значительна при терминальном илеите.
2. Выявлено, что частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 ассоциируется с молодым возрастом больных, тяжестью заболевания, его локализацией, риском оперативного вмешательства и качеством жизни пациентов. При терминальном илеите и рецидивном течении заболевания частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 по гетерозиготному варианту достигает 66-100%. Увеличение частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2 сопровождается повышением симпатической активности.
3. Установлено, что качество жизни пациентов улучшается при снижении частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2. В прогнозировании течения заболевания наибольшее значение имеют возраст больных, локализация патологического процесса и частота полиморфизма гена CARD15/NOD2.

Научно-практическая значимость работы

1. Определена выраженность клинических проявлений болезни Крона в зависимости от локализации патологического процесса.
2. Выявлена клиническая значимость дискоординации вегетативной нервной системы в прогрессировании течения заболевания.
3. Установлена степень ассоциации частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2 с течением заболевания и качеством жизни пациентов.
4. Выявлены факторы, влияющие на качество жизни пациентов в ближайшем и отдаленном периоде при болезни Крона.
5. Установлены критерии, необходимые для прогнозирования течения заболевания.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Болезнь Крона чаще всего развивается у больных работоспособного возраста. Гендерных различий не прослеживается. Выраженность клинических проявлений определяется локализацией процесса. Частота клинических проявлений снижается при поражении толстой кишки.
2. Частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 наиболее значительна при терминальном илеите, рецидивном течении заболевания и ассоциирована с повышенным риском оперативного вмешательства. Отсутствие полиморфизма гена CARD15/NOD2 при клинической манифестации патологии может ассоциироваться с поражением толстой кишки.
3. Качество жизни пациентов при болезни Крона определяется локализацией патологического процесса, характером лечебных мероприятий и ассоциируется с частотой полиморфизма гена CARD15/NOD2.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом фактического материала, применением адекватных и доказательных методов исследования. Использованы современные методы статистического анализа. Полученные данные документированы таблицами. На основании полученных результатов сформулированы выводы и практические рекомендации диссертации.

Основные положения диссертации нашли применение в практической деятельности ГАУЗ ЯО «Клиническая больница № 9» г. Ярославль. Результаты исследования используются при проведении учебного процесса со студентами V и VI курсов лечебного факультета и клиническими ординаторами Ярославского государственного медицинского университета.

Основные положения диссертации доложены на II съезде хирургов Приволжского федерального округа с международным участием (г. Нижний Новгород, 2018); заседании Ярославского областного общества хирургов (г. Ярославль, 2018); XIV Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы хирургии», посвященной памяти академика Л. В. Полуэктова (г. Омск, 2019); Всероссийской научно-практической

конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки» (г. Ярославль, 2018-2019 г).

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном выполнении всех этапов работы: в анализе современной научной литературы, в самостоятельном сборе фактического материала, проведении клинических исследований, статистической обработке и анализе полученных данных, их систематизации и интерпретации, подготовке публикаций, докладов по материалам, полученным в процессе проведения исследования.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ в центральной печати, из них 4 в журналах, входящих в Перечень ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Материал изложен на 148 страницах компьютерной печати. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 11 рисунками. Список литературы включает 80 отечественных и 240 зарубежных источников.

Работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, № государственной регистрации 01201255834.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика больных и методы исследования

Основу работы составили клинические наблюдения и специально проведенные исследования у 233 пациентов с болезнью Крона, которые были госпитализированы в экстренном порядке в хирургическое отделение ГАУЗ ЯО «Клиническая больница № 9» в период с 1972 по 2018 гг. В период с 1972 г. по 1982 г. поступили 29 (12,4%), с 1983 г. по 1993 г. – 42 (18,0%), с 1994 г. по 2004 г. – 51 (21,89%), с 2005 г. по настоящее время – 111 больных (47,64%), или более чем в 3,5 раза больше, чем в начальный период наблюдения. Диагноз «Болезнь Крона» ставился на основании комплексной оценки клинических проявлений, данных ультразвукового исследования, колоноскопии, лапароскопии, хирургического пособия, морфологических исследований, а также с учетом мониторинга течения заболевания у гастроэнтеролога и хирурга после выписки больных из стационара.

Среди обследованных женщин было 119 (51,1%), мужчин – 114 (48,9%). Возраст пациентов варьировал от 15 до 87 лет и в среднем составил 42,5 года. Через 12 часов от начала заболевания поступили 26,97%, через 24 часа – 23,0%, через 36 часов – 26,31% больных, остальные пациенты поступили в более поздние сроки.

По локализации патологического процесса изменения в тонкой кишке выявлены у 51 больного (21,9%), в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области – у 158 (67,8%), в толстой кишке – у 24 (10,3%).

Оперативное вмешательство выполнено у 135 больных (57,9%). Остальные больные лечились консервативно (42,1%). Среди оперированных больных 63 мужчины (46,7%) и 72 женщины (53,3%) в возрасте от 15 до 84 лет. Наиболее часто были подвержены экстренной операции пациенты с локализацией процесса в илеоцекальной области (76,3%).

Предварительным диагнозом до операции был острый аппендицит (62,2%), перитонит (13,3%), острая кишечная непроходимость (12,6%), перфорация полого органа (5,2%), другая патология (мезентериальный тромбоз, хронический аппендицит, внематочная беременность, дивертикул Меккеля) – в 5,2% случаев. С клинической картиной острого аппендицита поступали чаще пациенты молодого возраста женского пола (27,4%), а с диагнозом «Перфорация полого органа» – молодые мужчины (85,7%). Предварительный диагноз до операции «Острая кишечная непроходимость» ставился чаще больным старше 60 лет (58,8%).

Оперативное вмешательство сводилось к выполнению аппендэктомии (61,5%), резекции участка подвздошной кишки с первичным анастомозом (10,4%), резекции илеоцекального угла и терминального отдела подвздошной кишки с формированием илеоасцендоанастомоза (3,7%), резекции толстой кишки с выведением колостомы (3,7%), ушиванию перфорации кишки (3,7%). В 17% операция сводилась к диагностической лапаротомии, во время которой были выявлены локальные воспалительные изменения в тонкой кишке без признаков деструкции (табл. 1).

Таблица 1

Объем оперативного вмешательства при болезни Крона

Объем оперативного вмешательства	Возраст больных					
	до 40 лет (n=66)		от 40 до 60 лет (n=42)		старше 60 лет (n=27)	
	Мужчины (n=24)	Женщины (n=42)	Мужчины (n=26)	Женщины (n=16)	Мужчины (n=13)	Женщины (n=14)
Аппендэктомия	18 (13,3%)	37 (27,4%)	14 (10,4%)	7 (5,2%)	4 (3%)	3 (2,2%)
Резекция участка подвздошной кишки	4 (3%)	2 (1,5%)	2 (1,5%)	4 (3%)	1 (0,7%)	1 (0,7%)
Резекция илеоцекального угла	3 (2,2%)	2 (1,5%)	-	-	-	-
Резекция толстой кишки	-	-	1 (0,7%)	2 (1,5%)	2 (1,5%)	-
Ушивание перфорации кишки	1 (0,7%)	-	1 (0,7%)	-	2 (1,5%)	1 (0,7%)
Диагностическая Лапаротомия	1 (0,7%)	3 (2,2%)	5 (3,7%)	3 (2,2%)	4 (3%)	7 (5,2%)

Аппендэктомия чаще выполнялась пациентам молодого возраста женского пола (27,4%). Пациенты, которым была выполнена резекция участка подвздошной кишки, в 42,9% случаев относились к младшей возрастной группе, в 42,9% – к средней, в 14,2% – к старшей. Резекция илеоцекального угла выполнялась только больным младше 40 лет. Показания к экстренной операции с возрастом для пациентов снижались. Послеоперационная летальность составила 1,48% (двое больных старше 70 лет). В обоих случаях болезнь Крона осложнилась перфорацией кишки с формированием перитонита. Оба больных поступили в поздние сроки от начала заболевания. Фатальные исходы были обусловлены прогрессированием заболевания, абдоминальным сепсисом и декомпенсацией сопутствующей патологии.

Макроскопические интраоперационные изменения при болезни Крона сводились к наличию отграниченного участка воспаления на кишке с гиперемизированной, инфильтрированной и утолщенной стенкой. В отдельных случаях по свободному краю кишки определялась перфорация. При дальнейшей ревизии тонкой кишки можно было обнаружить стенозы на других участках кишечника, как исходы ранее возникших воспалений.

В группе неоперированных больных 48% женщин и 52% мужчин в возрасте от 17 до 87 лет. Комплекс лечебных мероприятий включал в себя антибактериальную терапию и применение сульфаниламидных препаратов (сульфасалазин, месалазин по схеме). После выписки больных из стационара дальнейшее лечение заболевания осуществлялось в амбулаторных условиях гастроэнтерологом совместно с хирургом. При активном мониторинге рецидив заболевания выявлен у 11 больных (20%). Согласно индексу Харви-Брэдшоу (Ивашкин В.Т. с соавт., 2017) легкая атака наблюдалась в 12%, среднетяжелая – в 43,3%, тяжелая – в 44,6% случаев.

Методы исследования были направлены, прежде всего, на выявление нарушений со стороны витальных функций организма. Нарушения гомеостаза оценивались по параметрам центральной гемодинамики (Шишмарев Ю.Н. с соавт., 1989; Заболотских И.Б. с соавт., 1998), показателям периферической крови (Меньшиков В.В., 1987) и вариационной пульсометрии (Баевский Р.М., 2001). Группу контроля составили 52 человека без сопутствующей соматической патологии. По показаниям больным при поступлении выполнялись рентгенологическое (66,5%), ультразвуковое (73,4%) исследования и колоноскопия (12,4%). Качество жизни пациентов оценивалось посредством опросника оценки статуса здоровья SF-36 (Ware J.E., 1994). Морфологические исследования резецированной кишки выполнены у 24 больных. Исследования проводились на кафедре патологической анатомии Ярославского государственного медицинского университета (заведующий кафедрой – проф. Панченко К.И.)

В качестве специально проведенных исследований были проанализированы полиморфные варианты гена CARD15/NOD2 (Gly908Arg, Leu3020insC) у 40 пациентов, ранее находившихся на лечении в хирургическом отделении по поводу болезни Крона. Выбор данных генов для исследования определялся их причастностью к изменениям в

кишечной стенке. Контрольную группу составили 40 человек с плановыми грыжесечениями по поводу грыж передней брюшной стенки. Исследования проводились на базе клинико-диагностической лаборатории НУЗ Дорожная клиническая больница на станции Ярославль ОАО «РЖД». Забор крови в исследуемой группе производился через 1-10 лет после выписки больного из хирургического стационара. Полиморфные варианты гена CARD15/NOD2 (Gly908Arg, Leu3020insC) определялись в сыворотке крови методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Обработка данных проводилась с помощью программ «Microsoft Excel 2016», «STATISTICA 8.0», «Биостатистика», «MedCalc» v.18.2. Характер распределения результатов оценивался критериями Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилкса. В случае если распределение было нормальным, результаты представлялись в виде $M \pm m$, где M - среднее, m – стандартная ошибка среднего, для анализа использовались параметрические критерии. Из параметрических методов использовались t -критерий Стьюдента, метод дисперсионного анализа для зависимых и независимых выборок. Из методов непараметрической статистики использовались парный критерий Манн–Уитни, для сравнения более двух независимых выборок использовался тест Крускала–Уоллиса. При оценке нечисловых значений использовался критерий Фишера и критерий χ^2 . Анализ корреляционных взаимоотношений между исследуемыми показателями осуществлялся с помощью критериев Пирсона с поправкой Йейтса. Достоверным считалось различие при $p < 0,05$. Для оценки прогностического влияния факторов риска, а также их возможной комбинации были использованы Receiver Operating Characteristic (ROC) Analysis и логистический регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические проявления болезни Крона разнообразны. Установлено, что ведущими клиническими симптомами болезни Крона являлись боль животе (91,8%), диспепсические явления (61,8%), расстройства стула (28,3%) и лихорадка до 38,5°C (28,2%). Частота симптомов в острой стадии заболевания определяется полом, возрастом пациентов и локализацией патологического очага (табл. 2).

В 56,6% случаев жалобы сводились к постоянной ноющей боли в нижних отделах живота, преимущественно в правой подвздошной области, сопровождающейся тошнотой или однократной рвотой. Эти больные поступили с подозрением на острый аппендицит. В 16,7% случаях боль в животе была схваткообразной и не имела четкой локализации, сопровождалась тошнотой, рвотой и вздутием живота. В данном случае при поступлении ставился диагноз «Острая кишечная непроходимость». В 38,6% случаев больные поступили в хирургическое отделение с положительными перитонеальными симптомами. Боль имела разлитой, ноющий характер, сопровождалась субфебрильной температурой. Как правило, этому предшествовала неинтенсивная ноющая боль в животе без четкой локализации, беспокоящая пациента в течении нескольких дней. На стадии развития перитонеальных симптомов чаще поступали пациенты мужского пола моложе 55 лет и локализацией процесса в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области (48,8%). 9,4% пациентов поступили в хирургический стационар с наличием

инфильтрата брюшной полости. Клинически это выразилось в неинтенсивной ноющей боли и лихорадке до 38,5°C. Диспепсические явления практически отсутствовали.

Таблица 2

Частота клинических проявлений (%) при болезни Крона

Группа больных		Симптомы						
		Боль в животе	Тошнота, рвота	Лихорадка	Перитонит	Диарея	Задержка стула	Кровь в стуле
Общие данные (n=233)		91,8	61,8	38,2	38,6	11,6	16,7	1,3
Пол	Мужчины (n=114)	91,2	60,5	40,4	40,4	10,5	12,3	0,9
	Женщины (n=119)	92,4	63,4	36,1	37	12,6	21	1,7
Возраст	до 55 лет (n=170)	93,5	60,5	35,2	43,9	14,7	11,2	-
	старше 55 лет (n=63)	87,3	65,1	42,9	26,9	7,9	31,7	4,8
Метод лечения	Оперативное (n=135)	100	71,2	46,6	68,7	2,2	12,9	-
	Консервативное (n=98)	81,6	52,5	27,5	-	23,5	21,5	2,9
Локализация	Терминальный отдел подвздошной кишки и илеоцекальная область (n=162)	98,1	68,5	38,3	48,8	8,6	20,9	-
	Тонкая кишка (n=47)	83	66	48,9	23,4	-	2,1	-
	Толстая кишка (n=24)	66,7	8,3	16,7	-	54,2	16,6	12,5

Установлено, что клиническая картина отличается при различной локализации патологического очага. Боль в животе наблюдалась у 98,1% больных с илеоцекальной локализацией патологического процесса, у 83% пациентов с тонкокишечной локализацией, исключая терминальный отдел подвздошной кишки, и лишь у 66,7% пациентов с толстокишечной локализацией. Диспепсия наблюдалась в равной степени у больных с тонкокишечной (66%) и илеоцекальной (68,5%) локализацией, однако тошнота и рвота не характерны для локализации очага воспаления в толстой кишке (8,3%).

Субфебрилитет при поступлении более характерен для больных с локализацией процесса в тонкой кишке (48,9%), исключая терминальный отдел подвздошной кишки и илеоцекальную область, у которых частота субфебрильной лихорадки наблюдалась в 38,3%. Лихорадка у больных с толстокишечной локализацией встречается лишь в 16,7% случаев. Диарея чаще встречалась при локализации воспаления в толстой кишке (54,2%).

Кровянистые выделения при дефекации характерны лишь для толстокишечной локализации патологического процесса и выявлены в 1,29% случаев.

Изменения в общем анализе крови наблюдались у 66,95% больных и были характерны при локализации воспаления в тонкой кишке или илеоцекальной области ($p < 0,05$). У 51,9% пациентов был выявлен лейкоцитоз выше $10,0 \times 10^9$ ед/л. В 22,3% случаев лейкоцитоз был выше $15,0 \times 10^9$ ед/л. Высокий лейкоцитоз наблюдался у больных с инфильтратом брюшной полости (12%) или в случае перитонита (10,3%). В 15% случаев в общем анализе крови наблюдалась анемия. Анемия более характерна для мужчин (15,9%), чем для женщин (11,8%) и для илеоцекальной локализации процесса (18,5%).

При оценке показателей общей гемодинамики существенных изменений не выявлено. Сдвиги со стороны СОС, СО, МОС и ПСС прослеживались в виде тенденции. В общей группе больных показатели были следующими: СО – $43,74 \pm 12,07$ мл, СОС – $56,09 \pm 17,6$ мл, МОС – $3495 \pm 463,7$ мл, ПСС – $2446,3 \pm 965,1$ дин/с/см⁻⁵ ($p > 0,05$). Однако величина периферического сосудистого сопротивления приближена к верхней границе нормы ($p > 0,05$).

Вместе с тем изменения со стороны вегетативного гомеостаза были более существенными. В общей группе больных показатели вариационной пульсометрии были следующие: мода (Мо) – $0,76 \pm 0,1$ с., амплитуда моды (АМо) – $64,41 \pm 8,6\%$, вариационный размах (ΔX) – $0,13 \pm 0,02$ с., индекс напряжения (ИН) – $338,39 \pm 34,56$ усл.ед. (табл. 3)

Таблица 3

Показатели вариационной пульсометрии при болезни Крона

Группа больных		Показатели кардиоинтервалографии			
		Мо, с	АМо, %	ΔX , с	ИН, усл.ед.
Общие данные (n=56)		$0,76 \pm 0,1$	$64,41 \pm 8,6^*$	$0,13 \pm 0,02^*$	$338,39 \pm 34,56^*$
Контроль (n=52)		$0,87 \pm 0,1$	$40,65 \pm 1,5$	$0,23 \pm 0,01$	$111,6 \pm 8,0$
Лечение	Оперативное (n=18)	$0,73 \pm 0,09$	$70,61 \pm 6,3^*$	$0,11 \pm 0,01^*$	$404,11 \pm 41,32^*$
	Консервативное (n=38)	$0,78 \pm 0,18$	$61,5 \pm 11,0^*$	$0,14 \pm 0,01^*$	$207,2 \pm 21,26^*$
Пол	Мужчины (n=26)	$0,73 \pm 0,11$	$64,0 \pm 7,4^*$	$0,12 \pm 0,02^*$	$362,5 \pm 28,8^*$
	Женщины (n=30)	$0,79 \pm 0,1$	$64,67 \pm 8,4^*$	$0,14 \pm 0,02^*$	$317,5 \pm 30,68^*$
Возраст	До 55 лет (n=41)	$0,77 \pm 0,18$	$62,0 \pm 18,4^*$	$0,14 \pm 0,08^*$	$327,5 \pm 26,8^*$
	Старше 55 лет (n=15)	$0,74 \pm 0,17$	$68,1 \pm 10,5^*$	$0,11 \pm 0,03^*$	$354,5 \pm 30,68^*$
Локализация процесса	Терминальный илеит (n=47)	$0,76 \pm 0,08$	$66,41 \pm 11,7^*$	$0,12 \pm 0,01^*$	$397,6 \pm 54,5^*$
	Толстая кишка (n=9)	$0,73 \pm 0,17$	$62,9 \pm 12,3^*$	$0,14 \pm 0,02^*$	$315,7 \pm 64,3^*$

* – достоверность к группе контроля ($p < 0,05$)

Эйтонический тонус вегетативной нервной системы был выявлен у 26,8%. В 73,2% случаев выявлено преобладание симпатической нервной системы, причем у 64,3% больных определено умеренное преобладание симпатической нервной системы, а у 8,9% – выраженное. Преобладания парасимпатической нервной системы выявлено не было (табл. 3).

В общей группе по сравнению с группой контроля АМо возрастает на 58,5%, ИН – на 203,2%, а ΔX снижается на 76,9%. Симпатическая активность у оперированных больных оказалась выше на 95%, чем у пациентов, которым не потребовалось экстренного оперативного вмешательства, и более чем в 2,6 раза, чем в контроле ($p < 0,05$). Достоверно значимые различия выявлены в группах больных, которым выполнялась аппендэктомия или резекция кишки ($p < 0,05$). Симпатическая активность повышалась на 73,8% и 138,1% соответственно, по сравнению с больными после консервативного лечения ($p < 0,05$). Самые низкие значения ΔX ($0,09 \pm 0,04$ с) и самый высокий индекс напряжения ($493,46 \pm 224,96$ усл.ед.) наблюдались у больных, которым при болезни Крона была выполнена резекция тонкой кишки. Симпатическая активность в этом случае была в 4,4 раза выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Установлено, что симпатическая активность на 14,1% выше у мужчин, чем у женщин, и у больных старше 55 лет (на 8,2%). При локализации очага воспаления в терминальном отделе подвздошной кишки влияние симпатического звена нервной системы было на 25% более выраженным, чем при толстокишечной локализации патологического процесса. Тяжесть атаки болезни Крона сопровождается повышением симпатической активности (на 55,5% - 88,2%).

При морфологическом исследовании препаратов установлено появление щелевидных или змеевидных язв на слизистой оболочке и гранулем. Язвы имели ровные края с наличием вокруг и преимущественно в дне язвы грануляционной ткани, воспалительного клеточного инфильтрата (рис. 1,2).

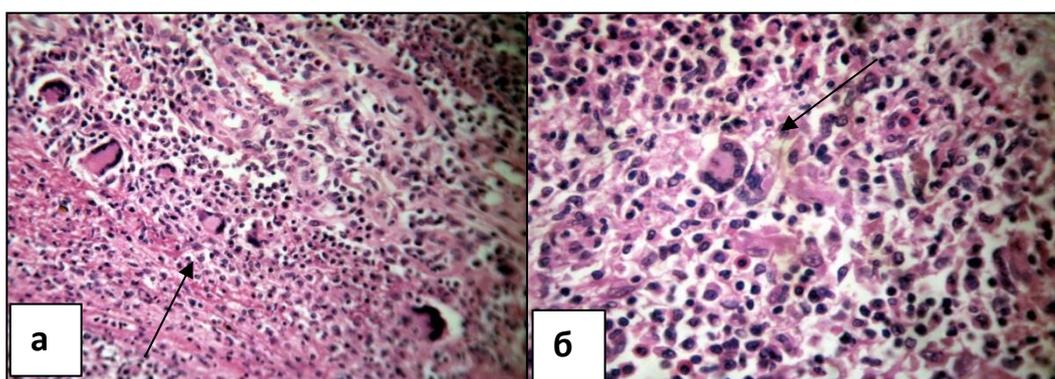


Рис. 1. Морфологические изменения тонкой кишки при болезни Крона. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: а - 100; б – 200.

а, б. – Щелевидные язвы слизистой оболочки и подслизистой основы. Инфильтрация слизистой оболочки лимфоцитами, плазмócитами, сегментоядерными лейкоцитами и гигантскими многоядерными клетками типа Пирогова-Ланхганса (показаны стрелками).

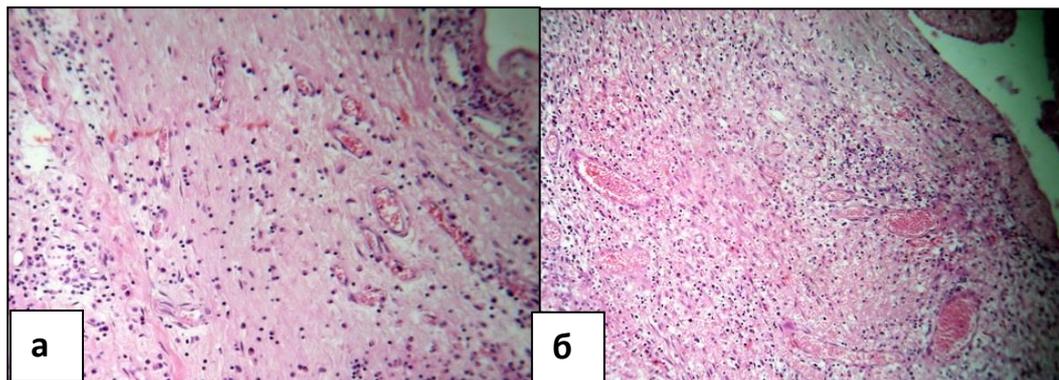


Рис. 2. Морфологические изменения тонкой кишки при болезни Крона. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: а - 200; б – 400.

а – Склероз стенки кишки с отеком и воспалительной инфильтрацией.

б – Участок утолщенной, склерозированной серозной оболочки с полнокровием сосудов и выраженной воспалительной инфильтрацией.

Гранулемы состояли из эпителиоидных клеток, лимфоцитов и многоядерных гигантских клеток типа Пирогова–Лангханса, но очагов казеозного некроза в них нет. Изменения мышечной оболочки кишки в виде мононуклеарной и эозинофильной инфильтрации. Прослеживался трансмуральный характер поражения (рис. 2).

При проведении генетических исследований установлено, что частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 среди пациентов с болезнью Крона составила 35%. Мутации встречались только в гетерозиготном варианте. Полиморфный вариант Leu3020insC выявлен в 30%, Gly908Arg – в 2,5%. Оба полиморфных варианта были выявлены в 2,5% случаев. Полиморфизм исследуемого гена чаще наблюдался среди мужчин (45%), чем среди женщин (25%). Среди пациентов женского пола Gly908Arg не встречался. В группе сравнения, среди больных с грыжами передней брюшной стенки, полиморфизма гена выявлено не было (табл. 4).

Полиморфный вариант Leu3020insC ассоциируется с молодым возрастом больных на момент начала заболевания и в равной мере встречался в возрастных категориях от 18 до 25 лет (42,9%) и от 26 до 35 лет (40%). Среди больных старшей возрастной группы данный полиморфный вариант выявлен не был. Напротив, Gly908Arg был выявлен среди больных старшей возрастной группы (9%) и среди больных средней возрастной группы в сочетании с Leu3020insC (6,6%).

Полиморфный вариант Leu3020insC ассоциируется с молодым возрастом больных на момент начала заболевания и в равной мере встречался в возрастных категориях от 18 до 25 лет (42,9%) и от 26 до 35 лет (40%). Среди больных старшей возрастной группы данный полиморфный вариант выявлен не был. Напротив, Gly908Arg был выявлен среди больных старшей возрастной группы (9%) и среди больных средней возрастной группы в сочетании с Leu3020insC (6,6%).

Частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 при болезни Крона

Группа больных		Частота полиморфных вариантов гена CARD15/NOD2			
		Leu3020insC	Gly908Arg	Leu3020insC, Gly908Arg	
Пациенты с болезнью Крона	Общие данные (n=40)		12 (30%)*	1 (2,5%)	1 (2,5%)
	Пол	Мужчины (n=20)	7 (35%)*	1 (5%)	1 (5%)
		Женщины (n=20)	5 (25%)*	-	-
	Возраст	от 18 до 25 (n=14)	6 (42,9%)*	-	-
		от 26 до 35 (n=15)	6 (40%)*	-	1 (6,6%)
		от 36 до 55 (n=11)	-	1 (9%)	-
	Рецидивное течение	да (n=8)	8 (100%)**	-	-
		нет (n=32)	4 (12,5%)	1 (3,1%)	1 (3,1%)
	Локализация	Илеоцекальная область (n=26)	10 (38,5%***)	1 (3,8%)	1 (3,8%)
		Тонкая кишка (n=7)	2 (28,6%)	-	-
Толстая кишка (n=7)		- (0%)	- (0%)	- (0%)	
Пациенты с грыжами передней брюшной стенки (n=40)		- (0%)	- (0%)	- (0%)	

* – достоверность к группе контроля ($p < 0,05$);

** – достоверность к группе больных без рецидива ($p < 0,05$)

*** – достоверность к группе больных с толстокишечной локализацией ($p < 0,05$)

При рецидивном течении болезни Крона выявлена 100% частота полиморфизма исследуемого гена, причем в виде полиморфного варианта Leu3020insC. В группе больных без рецидива заболевания в анамнезе частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 заметно ниже (18,7%). 92,8% больных с выявленным полиморфизмом гена CARD15/NOD2 в виде полиморфного варианта Leu3020insC составили пациенты, которым было показано оперативное вмешательство. Среди пациентов, пролеченных консервативно, полиморфные варианты гена CARD15/NOD2 были обнаружены только у 4,2%, причем был выявлен только вариант Gly908Arg.

Среди больных, которым была показана резекция илеоцекального угла и терминального отдела подвздошной кишки, полиморфный вариант Leu3020insC выявлен в 100% случаев, причем в 20% – в комбинации с Gly908Arg. Вариант Leu3020insC встречался с частотой 62,5% среди больных, которым была показана аппендэктомия, и с частотой 66,7% среди пациентов, которым выполнена резекция участка тонкой кишки.

В зависимости от локализации патологического процесса наибольшая частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 прослеживалась у больных с терминальным илеитом (85,7%). При толстокишечной локализации полиморфизма исследуемого гена не встречалось. Выявлена зависимость тяжести заболевания от частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2. При легком течении заболевания полиморфизмов гена выявлено не было, при среднетяжелом полиморфные варианты гена CARD15/NOD2 выявлены в 12%, при тяжелом – в 100% ($p < 0,05$). Причем с тяжелыми формами болезни Крона ассоциирован полиморфный вариант Leu3020insC ($p < 0,05$).

У 92,9% больных с выявленным полиморфизмом в гене CARD15/NOD2 отмечено преобладание симпатического звена нервной системы. При умеренном преобладании симпатической нервной системы полиморфный вариант Leu3020insC встречался в 8 раз чаще (36,4%), чем Gly908Arg (4,5%). При дальнейшем повышении симпатической активности Leu3020insC выявлен в 100% случаев, причем у 25% в сочетании с Gly908Arg. Среди пациентов с эйтоническим тонусом вегетативной нервной системы полиморфные варианты гена выявлены только в 7,1% случаев.

Интегральным показателем оценки состояния больных после лечения заболевания, безусловно, является уровень их качества жизни. При анализе качества жизни у 55 пациентов с болезнью Крона на протяжении 15 лет установлено, что качество жизни пациентов определяется временем с момента начала заболевания, характером лечебных мероприятий, возрастом и полом больных, локализацией патологического процесса и частотой полиморфизма гена CARD15/NOD2. Все показатели качества жизни начинают восстанавливаться через 5 лет с момента госпитализации и в дальнейшем повышаются с увеличением сроков от начала заболевания ($p < 0,05$). Показатели физической активности через 15 лет после выписки из хирургического стационара на 82,1% выше, чем через 1 год. В те же сроки уровень ролевого функционирования возрастает на 54,9%, а социального – на 41,1%. Выраженность болевого синдрома с течением времени уменьшается на 29,1%. Уровни психического здоровья и эмоционального состояния возрастают на 33,8% и 22,5% соответственно через 15 лет после выписки из стационара. Общее состояние здоровья и уровень жизненной активности оказались выше у пациентов женского пола на 8,6% и 9,8% соответственно. В то же время уровень физического функционирования выше на 4,6% у пациентов мужского пола (табл. 5).

Болевой синдром более выражен у больных женского пола (на 13,4%). Показатели психологического компонента оказались выше среди мужчин. Уровень общего состояния здоровья с возрастом снижается на 31,2% среди женщин и на 15,2% у мужчин. Однако показатели эмоционального состояния и психического здоровья в старшей возрастной группе растут, но не существенно.

Оперативное лечение также влияет на качество жизни больных. У больных после консервативного лечения физическое функционирование оказалось выше на 9,2%, а эмоциональное состояние – на 10,2%. Возрастающий объем операции негативно влияет на эмоциональное состояние больных. После аппендэктомии показатель психологического компонента здоровья выше, чем у больных после резекции кишки, на

16,4%, эмоционального состояния – на 5,2%, психического здоровья – на 7%. Наиболее негативно влияет на течение заболевания локализация воспалительного очага в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области. Это проявляется снижением физического состояния и психологического здоровья соответственно на 15,7% и 25,3%, по сравнению с толстокишечной локализацией.

Таблица 5.

Показатели качества жизни у пациентов с болезнью Крона

Показатели качества жизни	Общая группа (n=55)	Через 1 год (n=6)	Через 5 лет (n=22)	Через 10 лет (n=19)	Через 15 лет (n=8)
PF	84,14±7,1*	46,33±6,2	65±3,5*	88,45±6,3*	84,37±3,3*
RP	73,21±7,3*	57,12±4,4	66,12±6,8*	82,14±4,9*	88,32±6,5*
BP	79,79±6,1*	65,3±5,1	78,4±5,5*	88,52±5,4*	84,33±6,0*
GH	55,21±5,0*	30,33±2,2	50,26±4,1*	66,13±2,5*	68,44±4,5*
VT	61,07±5,1	54,14±2,7	56,11±3,7	85,33±4,6*	67,75±4,7*
SF	86,61±8,3*	62,8±2,9	71,4±2,5*	94,57±7,4*	88,56±8,0*
RE	83,33±7,6*	70,3±4,4	69,41±6,4	88,56±6,1*	86,13±7,6*
Mh	68,86±5,1*	54±2,3	57,44±5,5	75,17±7,3*	72,23±4,5*
PH	48,73±7,8*	39,25±1,4	43,14±4,3	50,32±1,4*	53,43±5,8*
MH	48,99±6,4	41,56±3,3	41,3±2,6	53,4±3,5*	58,16±6,4*

* – достоверность к показателям качества жизни больных через год после выписки

Качество жизни у пациентов с выявленным полиморфизмом гена CARD15/NOD2 снижается. У больных с частотой полиморфизма гена CARD15/NOD2 более 34% отмечено существенное снижение показателей общего состояния здоровья (на 32,8%), интенсивности боли (на 28,9%) и показателя физического функционирования (на 20,6%) (табл. 6).

Таблица 6.

Показатели качества жизни в зависимости от частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2

Шкала	Полиморфизм выявлен (n=14)	Полиморфизм не выявлен (n=26)
PF	85,14±7,1	91,1±5,6
RP	68,5±4,3	82,6±5,4*
BP	60,9±5,1	78,5±6,4*
GH	43,3±5,2	57,5±4,4*
VT	58,7±6,7	62,1±6,6
SF	85,2±7,4	86,4±5,8
RE	84,5±5,0	82,3±7,2
Mh	70,8±7,1	69,1±5,9
PH	45,3±3,5	50,1±3,8
MH	46,9±4,1	49,4±4,1

* – достоверность к предыдущему показателю (p<0,05)

Для улучшения результатов лечения болезни Крона, безусловно, важное значение имеет прогнозирование течения заболевания. Это позволяет своевременно назначить превентивную терапию и тем самым уменьшить возможность рецидива заболевания. В этой связи проведено исследование с использованием методов многомерной статистики. Для построения прогностической модели в отношении риска рецидива болезни Крона после выписки из хирургического стационара были использованы ROC-анализ и построение логистической регрессии. Данная модель, состоящая из количественных и качественных признаков, оказалась статистически значимой ($p < 0,0001$). В эту модель были включены следующие неуправляемые переменные: полиморфизм гена CARD15/NOD2; пол и возраст пациентов; локализация очага воспаления; показатели вариационной пульсометрии; метод проведенного лечения. Прогностическая мощность составила 90,28%.

В дальнейшем с целью выявления возможной комбинации выделенных переменных построено регрессионное уравнение, на основании которого выверена одиночная аналитическая шкала прогностических значений с оптимальной комбинацией между чувствительностью и специфичностью, определенных по последующей процедуре ROC-анализа (рис. 3).

Окончательное уравнение логистической регрессии составляли с включением всех значимых переменных, в результате оно имело вид:

$$\text{LOG} = 424,7683 + 2,78883 * \text{П} - 2786 - 4,27448 * \text{В} + 2,78114 * \text{ЛП} - 1,168534 * \text{ПВП} - 2,70242 * \text{ПГ} + 905 + 1,38997 * \text{ВЛ},$$

где **П** – пол больных;

В – возраст больных;

ЛП – локализация процесса;

ПВП – показатели вариационной пульсометрии;

ПГ – полиморфизм гена;

МЛ – метод проведенного лечения.

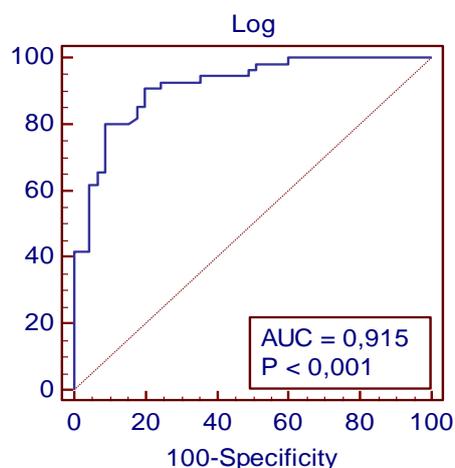


Рис. 3. ROC-кривая конечной прогностической модели

Уровень значения данной модели статистически значимый ($p < 0,0001$). Площадь под кривой (AUC) составляла 0,915. Точка отсечения при данной модели находилась на уровне – 0,5451, где чувствительность составила 94,75%, с 95% доверительным интервалом от 77 до 98, а специфичность – 94,5%, с 95% доверительным интервалом от 79 до 95, с положительным 11,5 и отрицательным 0,078 отношением правдоподобия.

Установлено, что возникновение рецидива заболевания более вероятно (90,28%) у больных молодого возраста с локализацией процесса в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области, преобладанием симпатической активности и наличием полиморфизма гена CARD15/NOD2.

ВЫВОДЫ

1. За последние 20 лет число пациентов с болезнью Крона в общехирургическом стационаре неуклонно возрастает. В возрастном аспекте преобладают больные от 20 до 60 лет. Локализация патологического процесса в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области превышает 67%.

2. Клиническое течение болезни Крона определяется областью поражения желудочно-кишечного тракта. Наиболее значительна частота болевого синдрома (98%) и диспепсических нарушений (68%) при локализации очага воспаления в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области. При локализации заболевания в толстой кишке возможно появление кровянистых выделений при акте дефекации (1,29%). Выраженность клинических проявлений сопровождается появлением лейкоцитоза в периферической крови.

3. Повышение симпатической активности при болезни Крона определяется тяжестью заболевания, локализацией патологического процесса и возрастом пациента, а при оперативном лечении – объемом оперативного пособия. При локализации очага воспаления в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области симпатическая активность повышается в 3,6 раза, при резекции пораженной кишки – в 4,4 раза, при тяжелом течении заболевания – в 5 раз. При этом показатели центральной гемодинамики изменяются незначительно.

4. Повышение частоты полиморфизма гена CARD15/NOD2 ассоциируется с локализацией заболевания, его тяжестью, риском оперативного вмешательства и качеством жизни пациентов. При поражении в терминальном отделе подвздошной кишки и илеоцекальной области мутации по гетерозиготному варианту выявляются в 46%, в других отделах тонкой кишки – в 33%. При поражении толстой кишки полиморфизм гена CARD15/NOD2 отсутствует.

5. Улучшение качества жизни пациентов с болезнью Крона наступает через 5 лет после госпитализации. Позитивная динамика наиболее выражена со стороны общего состояния здоровья, интенсивности болевого синдрома, физического и социального функционирования. После консервативного лечения уровень качества жизни возрастает за счет психической, после оперативного – за счет физической составляющей. Позитивные изменения со стороны качества жизни ассоциируются с отсутствием полиморфизма гена CARD15/NOD2.

6. При прогнозировании течения болезни Крона наиболее значимыми критериями являются возраст и пол больных, локализация патологического процесса, метод проведенного лечения, показатели вариационной пульсометрии и частота полиморфизма гена CARD15/NOD2. Их использование позволяет выявить предрасположенность к развитию рецидива заболевания в 90,28% случаев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диагностика в острой стадии болезни Крона базируется на комплексной оценке клинических проявлений, ультразвукового исследования желудочно-кишечного тракта, лапароскопии, а при наличии показаний – колоноскопии. При выполнении хирургического пособия дополнительными отправными данными являются результаты морфологического исследования.

2. Использование персонализированного подхода при болезни Крона с учетом генетического полиморфизма позволяет предположить наличие патологического процесса в тонкой кишке и илеоцекальной области.

3. После окончания курса лечения пациентов с болезнью Крона в общехирургическом стационаре необходимо их наблюдение в амбулаторных условиях у гастроэнтеролога совместно с хирургом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. В.В. Рыбачков, Н.В. Березняк. Частота кровотечений из желудочно-кишечного тракта при болезни Крона. // Теория и практика современной хирургии – Материалы X Всероссийской конференции общих хирургов с международным участием и конференцией молодых ученых-хирургов – г. Рязань – 2018. – с. 79-81.

2. **В.В. Рыбачков, А.В. Тевяшов, О.А. Маканов, Н.В. Березняк. Клинические аспекты болезни Крона. // Московский хирургический журнал. – 2018. – Том 3. - №61. - с. 18-19**

3. **В.В. Рыбачков, С.В. Куликов, Н.В. Березняк. Болезнь Крона в общехирургическом стационаре. // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2018. – Том 23. - №2. – с 11-14.**

4. **В.В. Рыбачков, А.В. Тевяшов, Е.Н. Кабанов, Н.В. Березняк. Ближайшие и отдаленные результаты лечения болезни Крона. // Инфекции в хирургии. - 2018. - Том 16. - № 1-2. - с. 95-97.**

5. В.В. Рыбачков, Н.В. Березняк. Состояние вегетативной нервной системы при болезни Крона. // Сборник материалов II съезда хирургов Приволжского федерального округа (с международным участием). – г. Нижний Новгород – 2018. – с 78 -80.

6. Н.В. Березняк, Е.Е. Каткова, С.А. Мурадова. Варианты оперативных вмешательств при болезни Крона. // Сборник тезисов 72-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки», посвященной 100-летию со дня рождения почётного профессора ЯГМУ, заслуженного врача РФ Ярыгина Н.Е. - Ярославль – 2018 -с. 132-133

7. А.Л. Хохлов, В.В. Рыбачков, Н.В. Березняк. Частота полиморфизма гена **CARD15/NOD2** при болезни Крона. // Вестник Национального медико-хирургического центра им.Н.И. Пирогова – 2019. – Том 14. – №1 – с. 53-55.

8. В.В. Рыбачков, Н.В. Березняк. Возможности персонализированного подхода в прогнозировании течения болезни Крона. // Материалы XIV Научно-практической конференции «Актуальные проблемы хирургии», посвященной памяти академика Л. В. Полуэктова. – г. Омск – 2019. – с. 90-94.

9. В.В. Рыбачков, И.Г. Дряженков, Н.В. Березняк. Возможности колоноскопии при болезни Крона. // Материалы Общероссийский хирургический форум совместно с XXII съездом Общества эндоскопических хирургов России. – г. Москва. – 2019. – с. 105-106.

10. Н.В. Березняк, Д.С. Калинин. Клинические проявления болезни Крона в общехирургическом стационаре. // Сборник тезисов 73-ей Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки», посвященная 75-летию Ярославского государственного медицинского университета. - Ярославль – 2019 -с.296-297

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МОС	Минутный объем сердца
СОС	Секундный объем сердца
СО	Систолический объем
ПСС	Периферическое сосудистое сопротивление
PF	Физическое функционирование (Physical Functioning)
RP	Рольное функционирование, обусловленное физическим состоянием (Role-Physical Functioning)
BP	Интенсивность боли (Bodily pain)
GH	Общее состояние здоровья (General Health)
VT	Жизненная активность (Vitality)
SF	Социальное функционирование (Social Functioning)
RE	Рольное функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (Role-Emotional)
Mh	Психическое здоровье (Mental Health – МН)
PH	Физический компонент здоровья
MH	Психологический компонент здоровья

Березняк Никита Витальевич
Хирургические аспекты болезни Крона
Автореф. дисс. на соискание ученой степени кандидата мед. наук.
Подписано в печать « » 2019 г. Заказ № .
Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 1. Тираж 100 экз.
Типография ООО « »
150000, г. Ярославль, ул. Тел.