

На правах рукописи

**Славкина Елена Анатольевна**

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОГО РЕФЛЮКСА И  
СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПИЩЕВОДА И  
ЖЕЛУДКА ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ**

**14.00.05 - внутренние болезни**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Саратов  
2004**

Работа выполнена в Саратовском государственном медицинском университете

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук профессор Козлова Ирина Вадимовна

Официальные оппоненты:  
доктор медицинских наук профессор Шептулин Аркадий Александрович;  
доктор медицинских наук профессор Ребров Андрей Петрович

Ведущее учреждение - Волгоградский государственный медицинский университет

Защита состоится « » октября 2004 г. в 10.00 час. на заседании диссертационного совета Д.208.094.02 при Саратовском государственном медицинском университете по адресу: 410012, г. Саратов, Б. Казачья, 112.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Саратовского государственного медицинского университета

Автореферат разослан « » 2004г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Ю.Ю. Елисеев

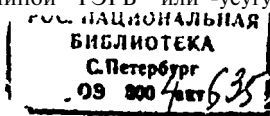
## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Бронхиальная астма- (БА) относится к наиболее распространенным хроническим заболеваниям человека. В мире число пациентов, страдающих БА, достигает 100 млн. В странах Центральной и Восточной Европы распространенность заболевания колеблется от 4 до 6%, в России - 5,4% [Смирнов Н.А., Смоленов И.В., 2001; Чучалин А.Г., 1996]. Около 50% российских пациентов имеют тяжелую форму заболевания, в странах Европы этот показатель составляет 19-29% [Бэрнс П., Годфри С, 2003; Ryu J.H., Myers J.L., Swensen S.J., 2003]. Неудовлетворительной остается и диагностика астмы легкого течения [Бабийчук Ю.В., 1997; Кобзев Д.Ю., Астафьева Н.Г., 1997; Райт АЛ., 2003].

Часто БА сочетается с заболеваниями органов пищеварения, что объясняется единством эмбриологического происхождения и тесными анатомо-физиологическими связями систем дыхания и пищеварения [Кириллов СМ., 1998; Ломоносов А.В., 1999; Арбатенко СМ., 2000; Клеменов А.В., Мартынов В.Л., 2003]. В последние годы пристальное внимание клиницистов привлекает ассоциация бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) [Бейтуганова И.М., Чучалин А.Г, 1999; Tobin R.W. et al., 1998; Micklefield G.H., 1998]. Это клиническое сочетание стало предметом изучения в связи с описанием внепищеводных проявлений ГЭРБ. К последним наряду с орофарингеальным и псевдокоронарным относится синдром рецидивирующей бронхиальной обструкции [Пасечников В.Д. с соавт., 2000].

К настоящему времени изучаются два патогенетических механизма развития БА на фоне ГЭРБ: микроаспирация желудочного содержимого в просвет бронхиального дерева и вагусный пищеводно-легочный рефлекс, последний изучен в основном в эксперименте [Mokhlesi B., Morris A.L., Huang CF. et al., 2001; Sontag S.J., 1997].

Однако взаимосвязь БА и ГЭРБ не исчерпывается возникновением бронхokonстрикции на фоне гастроэзофагеального рефлюкса. Установлено, что БА сама по себе может служить причиной ГЭРБ или -усугублять ее симптоматику [Dobashi K., 2002].



Таким образом, механизмы формирования сочетанной патологии и анализ особенностей ее течения нуждаются в дальнейшем исследовании.

Сама по себе частота встречаемости рефлюксной патологии пищевода при БА, по данным разных авторов, колеблется в достаточно широких пределах - от 31% до 90% - и требует дальнейшего анализа [Рошина Т.В., 2003; Riccioni G. et al., 2004; Sontag S.J., 1997] При БА, ассоциированной с ГЭРБ, практически не изучены механизмы легочно-пищеводных взаимодействий с позиций нарушенного регуляторного влияния компонентов диффузной эндокринной системы пищевода и желудка, обладающих широким спектром биологических эффектов в отношении как эзофагогастральной зоны, так и в отношении бронхов. Отсутствуют критерии раннего выявления гастроэзофагеального рефлюкса при БА, нет сведений о прогностически значимых критериях течения сочетанной патологии.

Все изложенное определило необходимость настоящего исследования, позволило сформулировать его цель и задачи.

### **Цель исследования**

У больных бронхиальной астмой определить частоту встречаемости и клинико-диагностическое значение патологического гастроэзофагеального рефлюкса и структурных изменений пищевода и желудка с прицельным анализом компонентов регуляторного звена, разработать алгоритм диагностики сочетанной патологии и определить прогностически значимые критерии тяжести ее течения.

### **Задачи исследования**

1. Определить частоту встречаемости клинических симптомов гастроэзофагеальной рефлюксной болезни при бронхиальной астме.
2. Изучить клинические особенности бронхиальной астмы, сочетающейся с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.
3. Исследовать эндоскопические, морфологические, гистобактериоскопические особенности гастроэзофагеальной зоны при сочетании бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

4. Определить количественную плотность эндокринных клеток, продуцирующих мелатонин, NO-синтазу, кальретинин, эндотелии-1 в пищеводе при бронхиальной астме, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.
5. Проанализировать взаимосвязи и взаимовлияния показателей количественной плотности компонентов диффузной эндокринной системы пищевода и клинических особенностей бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.
6. На основе результатов регрессионного анализа пищеводно-легочных взаимодействий предложить алгоритмы раннего выявления гастроэзофагеального рефлюкса при бронхиальной астме, критерии диагностики и тяжести течения сочетанной патологии.

#### **Научная новизна**

Проведенный впервые в клинической практике анализ количественной плотности компонентов диффузной эндокринной системы пищевода, продуцирующих кальретинин, оксид азота, эндотелии-1, а также апудоцитов желудка, продуцирующих мелатонин, у больных бронхиальной астмой, ассоциированной с патологическим гастроэзофагеальным рефлюксом, раскрыл новые механизмы формирования сочетанной патологии.

Впервые определена роль регуляторных нарушений компонентов ДЭС пищевода и желудка в возникновении и прогрессировании респираторных и рефлюксных расстройств при бронхиальной астме. Впервые выявленная взаимосвязь респираторных нарушений и структурных изменений пищевода позволяет рассматривать последние как дополнительные критерии в оценке тяжести бронхиальной астмы.

По результатам регрессионного анализа впервые определены диагностические критерии раннего выявления гастроэзофагеального рефлюкса при бронхиальной астме, предложены алгоритмы диагностики и критерии прогнозирования тяжести течения сочетанной патологии.

#### **Практическая значимость**

Применение анкеты-опросника по выявлению клинических признаков

патологического гастроэзофагального рефлюкса при бронхиальной астме позволит своевременно сформировать группу пациентов для детального клиничко-эндоскопического обследования и своевременного выявления рефлюксной патологии пищевода. Использование в практической работе омега-3 теста позволит повысить качество дифференциальной диагностики бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальным рефлюксом, и вариантов астмы, не связанных с рефлюксной патологией пищевода.

Математическая модель патологического процесса при сочетанной патологии является основой для создания экспертной системы по прогнозированию течения бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. Выявление диспептических симптомов, результаты исследования внутрипищеводного рН, количественной плотности компонентов диффузной эндокринной системы пищевода и желудка, данные общеморфологического и гистобактериологического анализа эзофагогастральной зоны станут показанием для оптимизации терапевтической тактики у больных бронхиальной астмой, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. При целенаправленном исследовании симптомы, типичные для гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, выявляются у 58% пациентов с бронхиальной астмой, а эндоскопически позитивная гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь - у 48,6% пациентов с сочетанием бронхоконстриктивных и гастроэзофагеальных нарушений.
2. Бронхиальная астма, ассоциированная с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, имеет более тяжелое течение, характеризуется большей частотой ночных приступов удушья, более значимыми нарушениями физической активности, чем не связанный с рефлюксной патологией пищевода вариант астмы. Выраженность респираторных нарушений коррелирует со снижением рН и тяжестью воспалительно-дистрофических изменений пищевода.
3. Степень обсемененности *Helicobacter pylori* антрального отдела желудка и дистальной части пищевода при бронхиальной астме превышает аналогичные

показатели у здоровых лиц, определяется активностью антрального гастрита, и не зависит от наличия гастроэзофагеального рефлюкса.

4. Разнонаправленные изменения количественной плотности компонентов регуляторного звена эпителиоцитов, продуцирующих NO-синтазу, эндотелии-1, кальретицин в пищеводе, мелатонин - в антральном отделе желудка играют значительную роль в возникновении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у больных бронхиальной астмой и определяют тяжесть течения сочетанной патологии.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе на лекциях и практических занятиях на кафедрах терапии педиатрического и стоматологического факультетов, факультетской терапии лечебного факультета Саратовского государственного медицинского университета, военно-полевой терапии Саратовского военно-медицинского института. Методы и результаты исследования используются в практической работе гастроэнтерологического и пульмонологического отделений клиники терапии Саратовского военно-медицинского института, в практике работы терапевтического и гастроэнтерологического отделений клинической больницы №3 Саратовского государственного медицинского университета, пульмонологических отделений клинической больницы №8 г. Саратова.

Результаты исследования вошли в методические рекомендации «Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь с внепищеводными проявлениями: клиника, диагностика, тактика ведения» (Саратов: Изд-во СГМУ, 2003), утвержденные МЗ РФ; в учебное пособие «Болезни органов дыхания у подростков» - глава «Бронхиальная астма» (Саратов, Изд-во СГМУ, 2003), утвержденное МЗ РФ, в информационное письмо «Бронхиальная астма, ассоциированная с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью: особенности диагностики и тактики ведения» (Саратов, 2004), утвержденное МЗ Саратовской области.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы

гастроэнтерологии» (Саратов,2002); 6-й региональной научно-практической конференции молодых ученых, специалистов и студентов (Ростов-на-Дону, 2003); 11-й научно-практической конференции Российской гастроэнтерологической ассоциации и Сибирского государственного медицинского университета (Томск,2003); 5-м Славяно-Балтийском форуме «Санкт-Петербург-Гастро-2003» (Санкт-Петербург, 2003); IX Российской гастроэнтерологической неделе (Москва,2003); XVI Всемирном конгрессе по астме (Санкт-Петербург,2003); IX Международном конгрессе по клинической патологии (Бангкок,2004); на совместной научно-практической конференции кафедр терапии педиатрического и стоматологического факультетов, факультетской терапии лечебного факультета, госпитальной терапии лечебного факультета, внутренних болезней в интернатуре Саратовского государственного медицинского университета. По теме диссертации в центральной и региональной печати опубликованы 12 работ.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, главы, посвященной описанию материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 162 страницах машинописного текста, иллюстрирована 39 таблицами, 31 рисунком. Список литературы содержит 294 источника, из них 123 отечественных и 171 иностранных авторов.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Собственные наблюдения охватывают период с 2001 по 2003 гг. Исследование проводилось в два этапа.

Для анализа частоты встречаемости симптомов ГЭРБ у больных БА на первом этапе исследования проведено анкетирование 400 пациентов с БА с помощью составленной нами анкеты.

На втором этапе работы нами были обследованы 150 человек, из них 60 больных с сочетанием БА и эндоскопически позитивной ГЭРБ (средний возраст  $33,7 \pm 1,8$ ); группы сравнения составили 30 больных с изолированной БА (средний возраст  $34,6 \pm 1,9$  года) и 30 с изолированной ГЭРБ (средний возраст



33,8±1,8 лет). Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц (средний возраст 33,5±1,9 лет).

Бронхиальная астма диагностировалась в соответствии с Международным консенсусом (GINA, 2002); диагноз ГЭРБ ставился на основании типичных пищеводных симптомов (изжога два и более раз в неделю, боль в области мечевидного отростка, отрыжка, срыгивание, одинофагия) и эндоскопической картины рефлюкс-эзофагита.

Критериями включения в основную группу больных с сочетанной патологией служили: верифицированная БА, наличие пищеводных симптомов ГЭРБ и рефлюкс-эзофагита. Критерии исключения: прием кортикостероидов per os, наличие сопутствующих заболеваний органов пищеварения (язвенная болезнь, хронический панкреатит, желчнокаменная болезнь, воспалительные заболевания кишечника), заболеваний сердечно-сосудистой системы (ИБС, недостаточность кровообращения), злокачественные новообразования, диффузные болезни соединительной ткани, системные васкулиты, отказ больного от исследования.

Критериями включения в группу сравнения пациентов с изолированной БА являлись: наличие диагностированной БА с типичными приступами экспираторного удушья. Критерии исключения в этой группе - наличие клинических симптомов ГЭРБ, эндоскопических признаков рефлюкс-эзофагита, прием глюкокортикоидов per os, наличие других хронических заболеваний бронхолегочной системы, сопутствующих заболеваний органов пищеварения (язвенной болезни, хронического панкреатита, желчнокаменной болезни), злокачественные новообразования, заболевания сердечно-сосудистой системы (ИБС, недостаточность кровообращения), отказ больного от исследования.

Критериями включения пациентов в группу сравнения с изолированной ГЭРБ служили наличие клинической, симптоматики и эндоскопических проявлений ГЭРБ; критерии исключения - эндоскопически негативная ГЭРБ, заболевания бронхолегочной системы, обострение хронических заболеваний органов пищеварения (язвенной болезни, желчнокаменной болезни, болезней кишечника, диффузных заболеваний печени), злокачественных

новообразований, заболеваний сердечно-сосудистой системы (ИБС, недостаточность кровообращения), отказ больного от исследования.

Всем пациентам выполнялись лабораторные исследования, включавшие общие анализы крови, мочи, копрологическое и копроовоскопическое исследование, клинический анализ мокроты, ЭКГ, спирографию, УЗИ органов брюшной полости и ЭГДС с прицельной биопсией слизистой оболочки дистального отдела пищевода, антрального отдела желудка. Больным бронхиальной астмой для исключения других заболеваний, проявляющихся бронхиальной обструкцией и имеющих соответствующую рентгенологическую симптоматику (легочные васкулиты, экзогенно-аллергические альвеолиты, некоторые формы опухолей), проводилось рентгенологическое исследование грудной клетки, а также тест с ингаляционными бронхолитиками. Проба на скрытый бронхоспазм заключалась в определении разницы FEV<sub>j</sub> до и спустя 20 минут после ингаляции сальбутамола или беротека. Скрытый бронхоспазм оценивали как слабый при увеличении FEV<sub>j</sub> на 15-20%, выраженный - при увеличении FEV<sub>j</sub> на 20-30%, резко выраженный - при увеличении FEV<sub>j</sub> более 30% [Клемент Р.Ф., Зильбер Н.А., 1993].

Пациентам основной группы и группы сравнения с изолированной БА проводились исследования ФВД (на аппарате КСП-1) с определением объемных и скоростных показателей, а также их временных соотношений по следующим параметрам: FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>25%</sub>, FEV<sub>50%</sub>, FEV<sub>75%</sub>.

Интрапищеводная рН-метрия осуществлялась с использованием аппарата «Ацидогастромер АГМ-03» и зонда с двумя измерительными рН - электродами (НПП «Исток-Система», г. Фрязино) по унифицированной методике, предложенной Е.Ю. Линаром (1974г). Регистрация рН проводилась в реальном масштабе времени. Положение электродных зондов контролировалось эндоскопически. Рефлюкс определялся в случае снижения рН пищевода менее 4.

Все больные БА обследовались в период стихающего обострения или ремиссии. ЭГДС проводилась натощак с использованием гибких эндоскопов («Olympus», Япония) с прицельной биопсией слизистой оболочки пищевода и желудка. При эндоскопии оценивали наличие, выраженность,

распространенность и локализацию воспалительной реакции слизистой оболочки нижней трети пищевода (гиперемия, рыхлость слизистой оболочки), наличие эрозивно-язвенных изменений, экссудата, отложений фибрина. Особое внимание уделяли функциональному состоянию кардии и привратника, наличию гастроэзофагеального и дуоденогастрального рефлюксов. В соответствии с классификацией по Savary-Miller (1978) в модификации Carisson и соавт. (1996) выделяли 4 степени рефлюкс-эзофагита.

Для оценки обсемененности *Helicobacter pylori* изучались мазки-отпечатки слизистой оболочки антрального и фундального отделов желудка, а также нижней трети пищевода, окрашенные по Романовскому-Гимзе. Подсчитывалось количество *Helicobacter pylori* в 10 последовательных полях зрения с выделением степеней обсемененности слизистой оболочки эзофагогастральной зоны *Helicobacter pylori* [Аруин Л.И. с соавт. 1993]. Выполнялась также полимеразная цепная реакция (ПЦР) для определения в биопсийном материале антигенов *H. pylori*. Исследование проведено на базе лаборатории ВНИПЧИ «Микроб», при консультировании зав. лабораторией доктора медицинских наук профессора А.Н. Куличенко, которому автор выражает искреннюю признательность. Для выделения ДНК из исследуемых биоптатов желудка использовали наборы фирмы "НПФ Литех».

Общеморфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода и желудка проводилось совместно с сотрудниками кафедры патологической анатомии Саратовского государственного медицинского университета при консультации заведующего кафедрой канд.мед.наук доцента П.Ф. Аверьянова. При гистологическом исследовании слизистой пищевода оценивались: характер эпителия (плоский, цилиндрический), наличие отека и полнокровия, характер клеточной инфильтрации, пролиферация клеток базального слоя; в гастробиоптатах определяли наличие и активность хронического воспаления, атрофию и кишечную метаплазию, которые оценивались полуколичественно с использованием визуально-аналоговой шкалы [Dixon M, Genta R., Yardley J. et al., 1996].

Иммуногистохимическое и морфометрическое исследования выполнены в отделе клеточной биологии и патологии Санкт-Петербургского института

биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН при консультации зав. отделом доктора мед. наук проф. И.М. Кветного, за что автор выражает свою искреннюю признательность.

Для идентификации гормонов в нейроэндокринных клетках и эпителиоцитах желудка и пищевода использовали моноклональные мышинные антитела фирмы Novocastra против NO-синтазы (титр 1:1000), эндотелина-1 (титр 1:500), кальретинина (титр 1:500) и поликлональную кроличью антисыворотку против мелатонина фирмы CIDResearch Inc.(титр 1:250). Иммуногистохимическое выявление на гистологических срезах выполнено иммунопероксидазным методом. Морфометрический анализ иммунореактивных эпителиоцитов проводился с помощью системы компьютерной обработки микроскопических изображений Nikon. Количество клеток подсчитывалось в пяти полях зрения при указанном увеличении, цифровые данные пересчитывались на  $0,1 \text{ мм}^2$  с помощью пакета прикладных морфометрических программ Videotest.

Математическая обработка результатов исследования проведена с помощью пакета статистических программ STATISTICA 6.0 на персональном компьютере IBM Pentium. Статистическую обработку полученных данных проводили по общепринятой методике, использовались средние значения, ошибка, доверительный интервал.

Корреляционные связи между параметрами оценивались с помощью методов Пирсона и Спирмена. Достоверность различий средних показателей и значимость корреляционной связи оценивали по критерию Стюдента.

Для сравнения частоты встречаемости признаков использовался критерий Хи-квадрат с коррекцией Йейтса. Точность построения моделей проверялась по критерию Фишера. В соответствии с поставленными задачами был выполнен многомерный регрессионный анализ полученных данных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование выполнялось в два этапа. На первом этапе проведено анкетирование 400 пациентов с БА для определения частоты встречаемости у них симптомов ГЭРБ.

Симптомы ГЭРБ были выявлены при целенаправленном опросе у 232 пациентов (58%). С диагностической целью у данного контингента больных выполнялся омепразоловый тест, который заключался в назначении омепразола в дозе 40 мг в сутки (по 20 мг два раза в сутки). На фоне приема омепразола у 198 (90%) больных в течение суток исчезали симптомы ГЭРБ, 160 пациентов (68,9%) отметили уменьшение проявлений БА. Пациентам, клиническая картина которых позволяла заподозрить ГЭРБ, а также при положительном омепразоловом тесте, влияющим на проявления БА, выполнялась ЭГДС. Эндоскопически были обследованы 220 пациентов, у 107 (48,6%) из них была выявлена эндоскопически позитивная форма ГЭРБ.

Анализ клинической картины БА, ассоциированной с ГЭРБ, показал, что для подобных больных характерна существенно большая частота дневных и особенно ночных симптомов БА, чем при изолированном течении заболевания. На больных с сочетанной патологией в среднем приходилось  $2,2 \pm 0,2$  госпитализации за год, при БА, не ассоциированной с ГЭР, -  $1,7 \pm 0,2$  госпитализаций ( $p < 0,05$ ). При анализе клинической картины отмечена статистически достоверная корреляция между частотой возникновения изжоги и тяжестью течения БА ( $R = 0,53$  при  $p < 0,05$ ).

Исследование ФВД показало (табл. 1), что при сочетанной патологии имеется статистически значимое снижение  $FEV_1$ ,  $FEV_{25\%}$ ,  $FEV_{50\%}$ ,  $FEV_{75\%}$  по сравнению с аналогичными показателями пациентов с изолированной БА ( $p < 0,05$ ). Обнаружена прямая корреляция между частотой возникновения изжоги и показателями функции внешнего дыхания:  $FEV_1$   $R = -0,71$ ;  $FEV_{25\%}$   $R = -0,61$ ;  $FEV_{50\%}$   $R = -0,62$ ;  $FEV_{75\%}$   $R = -0,57$ ;  $FVC$   $R = -0,49$  (все показатели корреляции при  $p < 0,01$ ). Таким образом, клинические проявления гастроэзофагеального рефлюкса усугубляют нарушения ФВД при БА.

Таблица 1.

**Показатели функций внешнего дыхания у пациентов с сочетанием бронхиальной астмы  
и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни**

Показатель ФВД	Легкое течение бронхиальной астмы		Среднетяжелое течение бронхиальной астмы		Тяжелое течение бронхиальной астмы	
	БА (n=9)	БА и ГЭРБ (n=20)	БА (n=16)	БА и ГЭРБ (n=26)	БА (n=5)	БА и ГЭРБ (n=14)
FVC	100,8±2,0	101,0±0,96	91,3±0,6	93,9±1,1	84,8±1,0	82,5±0,7
FEV1	84,6±0,6	80,4±0,9*	68,3±0,6	65,4±1,0*	50,6±1,2	46,6±0,5*
FEV25%	68,6±0,4	68,5±0,78	52,6±0,6	50,5±0,8*	45,6±0,9	40,7±0,9*
FEV50%	67,2±0,57	66,0±0,78	52,1±0,6	49,6±1,1*	44,0±1,1	39,4±1,3*
FEV75%	66,1±0,6	62,7±0,6*	51,8±0,8	48,8±0,9*	42,2±1,5	35,4±1,8 *

Примечание: \* обозначены достоверные различия изолированной бронхиальной астмы (БА) с соответствующими показателями при сочетанной патологии (БА и ГЭРБ)

При эндоскопическом обследовании у 22 (36,6%) пациентов с сочетанием БА и ГЭРБ отмечен катаральный эзофагит, у 38 (63,3%) - эрозивный процесс в пищеводе; при этом рефлюкс-эзофагит I степени (по классификации Savary-Miller) имел место у 26 (43,3%), рефлюкс-эзофагит II степени - у 12 (20%) больных. При сочетанной патологии отмечены значимые корреляции между выраженностью рефлюкс-эзофагита и показателями ФВД:  $FEV_1$   $R=-0,81$ ;  $FEV_{25\%}$   $R=-0,76$ ;  $FEV_{50\%}$   $R=-0,79$ ;  $FEV_{75\%}$   $R=-0,78$  (все при  $p<0,01$ ). Полученные результаты свидетельствуют, что формирование эрозивного процесса в пищеводе закономерно сопровождается снижением основных показателей функции внешнего дыхания.

У 8 (13,3%) пациентов патологии желудка при ЭГДС не обнаружено, у 28 (46,7%) отмечался поверхностный гастрит, у 22 (36,7%)- очаговый атрофический гастрит, у 2 (3,3%) - диффузная атрофия антрального отдела желудка.

Таким образом, у больных с сочетанием БА и ГЭРБ чаще, чем у здоровых лиц, отмечаются эндоскопические признаки хронического гастрита. Статистически значимых различий по сравнению с пациентами из групп сравнения не обнаружено.

Гистологические признаки антрального гастрита (активность, хроническое воспаление) были более значительными у пациентов основной группы по сравнению со здоровыми. Значимых различий гистологической картины слизистой оболочки антрального отдела желудка между пациентами основной группы и группы сравнения не найдено. В основной группе, как и в группе пациентов с изолированной БА, гистологические изменения антрального отдела желудка нарастали соответственно тяжести БА.

Обнаружена прямая корреляция между наличием *H. pylori* в желудке и пищеводе и тяжестью течения БА ( $R=0,64$  при  $p<0,05$ ). Наличие гастроэзофагеального рефлюкса, по нашим данным, существенно не влияло на степень обсемененности антрального отдела желудка *H. pylori*.

У больных основной группы при морфологическом исследовании биоптатов пищевода отмечались гиперплазия, баллонная дистрофия, очаговая десквамация и лейкоцитарная и лимфоплазмоцитарная инфильтрация эпителия, глубокий отек стромы, наличие геморрагии, некротических масс в дне эрозий, участков фиброза в более глубоких слоях. Капилляры и венулы расширены, полнокровны с явлениями плазмпропитывания, мукоидного и фибриноидного набухания, гиалиноза. По ходу сосудов обнаружено разрастание фиброзной ткани. У пациентов основной группы в сравнении с соответствующими показателями при изолированной ГЭРБ обнаружены большая частота отека стромы и полнокровия слизистой дистального отдела пищевода, более часто встречаются лейкоцитарная и плазмоцитарная инфильтрация его слизистой оболочки. Степень обсемененности пищевода *H. pylori*, в основной группе была аналогична соответствующим показателям в группе с изолированной ГЭРБ.

Показатели интрапищеводной рН в основной группе были существенно ниже ( $3,17 \pm 0,08$ ), чем при изолированной ГЭРБ ( $3,54 \pm 0,06$ ;  $p < 0,05$ ), и значительно ниже, чем при изолированной БА ( $4,8 \pm 0,04$ ,  $p < 0,05$ ). При сочетанной патологии обнаружена обратная корреляция между интрапищеводной рН и тяжестью течения БА ( $R = -0,79$  при  $p < 0,05$ ). Таким образом, кислотный рефлюкс - один из основных факторов, определяющих тяжесть течения БА при ее сочетании с ГЭРБ.

Результаты иммуногистохимического и морфометрического исследований (табл. 2) свидетельствуют, что у пациентов с сочетанием ГЭРБ и БА определяется увеличение количественной плотности эпителиоцитов пищевода, продуцирующих NO-синтазу, эндотелии-1 и снижение количества апудоцитов пищевода и желудка, синтезирующих кальретинин и мелатонин, по сравнению со здоровыми лицами и соответствующими показателями в группах сравнения.

Корреляционный анализ выявил обратную корреляцию между количественной плотностью мелатонинпродуцирующих эпителиоцитов и тяжестью течения БА ( $R = -0,59$  при  $p < 0,01$ ).



**Количественная плотность апудоцитов пищевода и желудка при сочетании  
бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни**

**(расчет на 0,1 кв. мм слизистой оболочки)**

Показатель	БА и ГЭРБ (n=60)	БА (n=30)	ГЭРБ (n=30)	Практически здоровые лица (n=30)
Мелатонин (желудок)	3,2±0,1**	11,7±0,4	6,0±0,1*	12,3±0,2
NO-синтаза (пищевод)	56,1±0,4**	48,9±0,6*	48,5±0,3*	42,3±0,4
Эндотелин-1 (пищевод)	52,2±0,3**	43,8±0,7*	43,1±0,3*	34,5±0,2
Кальретинин (пищевод)	29,5±0,5**	42,4±0,6*	41,4±0,4*	53,6±0,4

\* значимые различия с практически здоровыми лицами ( $p<0,05$ )

\*\* значимые различия с изолированными БА и ГЭРБ ( $p<0,05$ )

Определена также обратная корреляция между количественной плотностью апудоцитов антрального отдела желудка, вырабатывающих мелатонин, и выраженностью рефлюкс-эзофагита ( $R=-0,61$  при  $p<0,01$ ), между количеством мелатонинпродуцирующих апудоцитов желудка и уровнем pH дистальной части пищевода ( $r=0,68$  при  $p<0,01$ ). Таким образом, уменьшение количества мелатонинпродуцирующих апудоцитов желудка может инициировать развитие ГЭРБ у пациентов с БА.

Обнаружена прямая корреляция между количественной плотностью NO-синтазпродуцирующих клеток пищевода и частотой приступов БА ( $R=0,78$  при  $p<0,01$ ), между количественной плотностью клеток пищевода, продуцирующих NO-синтазу, и частотой возникновения изжоги и выраженностью рефлюкс-эзофагита ( $R=0,79$  при  $p<0,05$ ), а также уровнем pH дистальной части пищевода ( $R=-0,72$  при  $p<0,05$ ). Выявлены прямая корреляция между количественной плотностью эндотелин-1 иммунореактивных эпителиоцитов и тяжестью течения БА ( $R=0,76$  при  $p<0,01$ ), а также прямая корреляция между уровнем эндотелина-1 и выраженностью рефлюкс-эзофагита при БА ( $R=0,77$  при  $p<0,01$ ), обратная корреляция количественной плотности эндотелин-1 иммунореактивных эпителиоцитов и уровнем интрапищеводной pH ( $R=-0,72$  при  $p<0,05$ ).

Отмечена также обратная корреляция между количественной плотностью эпителиоцитов пищевода, вырабатывающих кальретинин, и тяжестью течения БА ( $R=-0,71$  при  $p<0,05$ ), а также выраженностью рефлюкс-эзофагита ( $R=-0,75$  при  $p<0,05$ ); прямая корреляция между числом кальретининпродуцирующих апудоцитов и уровнем pH диетальной части пищевода ( $R=0,70$  при  $p<0,05$ ).

Изменения количественной плотности эндокринных клеток пищевода и желудка были наиболее выраженными при сочетанной патологии. Результаты исследований позволили предположить, что нарушения регуляторного звена, в частности, гиперплазия эндокринных клеток пищевода, продуцирующих N0-синтазу, эндотелин-1 и снижение количества апудоцитов пищевода и желудка, синтезирующих кальретинин и мелатонин, становятся одним из механизмов формирования бронхообструкции на фоне ГЭРБ. Очевидно, этот же патогенетический механизм способен вызывать и поддерживать патологический ГЭР при БА. Таким образом, обнаруженные в нашем исследовании изменения компонентов диффузной эндокринной системы пищевода и желудка могут быть одним из факторов формирования синдрома взаимного отягощения при сочетании БА и ГЭРБ.

Нами были разработаны математические модели диагностики и оценки характера течения бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагальным рефлюксом. При этом представлялось важным установление своевременной диагностики патологического ГЭР у больных БА; прогнозирование тяжести течения БА при ее сочетании с ГЭРБ.

Применение регрессионного анализа позволило выделить новые значимые критерии в ранней диагностике гастроэзофагеального рефлюкса у пациентов с БА. Коэффициенты регрессии математической модели и диагностическая ценность анализируемых факторов по t-критерию представлены в табл.3.

Наиболее значимыми факторами в ранней диагностике патологического ГЭР у пациентов с БА являются: частота приступов бронхиальной астмы в течение суток ( $X_6$ ); частота ночных приступов бронхиальной астмы ( $X_7$ );

Таблица 3

**Модель диагностики гастроэзофагеального рефлюкса при бронхиальной астме  
с помощью регрессионного анализа и поправочных коэффициентов**

Показатель	Коэффициент регрессии	Ошибка коэф. регрессии	t-критерий Стьюдента	P значение
X <sub>6</sub> – Частота приступов в течение суток	0,098240207	0,045725628	2,148471487	0,034819742
X <sub>7</sub> – Частота ночных приступов	0,055564849	0,040715306	1,364716502	0,176317044
X <sub>10</sub> – FVC	0,009213028	0,005874376	1,568341521	0,120902056
X <sub>12</sub> – FVC <sub>25%</sub>	-0,378927078	0,090153727	-4,203121619	7,02785E-05
X <sub>34</sub> – Клетки желудка, продуцирующие мелатонин	-0,052307547	0,008122738	-6,439644468	9,36812E-09
X <sub>35</sub> – Клетки пищевода, иммунопозитивные к NO-синтазе	0,004115389	0,00314144	1,310032542	0,194079636
X <sub>36</sub> – Клетки пищевода, иммунопозитивные к эндотелину-1	0,01016923	0,004275808	2,378317905	0,019871313
X <sub>37</sub> – Клетки пищевода, иммунопозитивные к кальретинину	-0,02234795	0,004846688	-4,610973917	1,56611E-05

форсированная жизненная емкость легких ( $X_{10}$ ),  $FEV_{25\%}$  - максимальная объемная скорость, в момент когда в легких остается 25% ЖЕЛ ( $X_{12}$ ); число клеток желудка, продуцирующих мелатонин ( $X_{34}$ ); число NO-синтаз-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{35}$ ); число эндотелин-1-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{36}$ ); число кальретицин-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{37}$ ).

По результатам регрессионного анализа была выведена формула:

$$Y = 0,331512 + a_1x_6 + a_2x_7 + a_3x_{10} + a_4x_{12} + a_5x_{34} + a_6x_{35} + a_7x_{36} + a_8x_{37};$$

где Y- целевая функция,

$a_{1-8}$  - коэффициенты регрессии,

x - определяемые факторы.

Полученные у конкретного пациента лабораторные и инструментальные показатели умножали на соответствующий поправочный коэффициент (табл. 3) и к полученной сумме прибавляли константу ( $a_0 = 0,331512$ ). Если при подстановке соответствующих параметров пациента в уравнение регрессии значение целевой функции составляет  $Y > 0,892$ , можно предполагать развитие у больного бронхиальной астмой патологического гастроэзофагеального рефлюкса. При значениях  $Y < 0,892$ , у данного больного БА патологический рефлюкс не развивается.

С помощью регрессионного анализа нами были определены наиболее значимые факторы, позволяющие оценить тяжесть течения сочетанной патологии (бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью). Коэффициенты регрессии этой диагностической модели и значимость факторов по t-критерию представлены в табл.4. Были выделены наиболее значимые диагностические критерии оценки тяжести течения сочетанной патологии: частота приступов бронхиальной астмы в течение суток ( $X_6$ ); частота ночных приступов бронхиальной астмы ( $X_7$ ); степень эзофагита по Savari-Miller ( $X_{17}$ ); pH в дистальном отделе пищевода ( $X_{29}$ ); число клеток желудка, продуцирующих мелатонин ( $X_{34}$ );

Таблица 4

**Модель диагностики тяжести течения бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальным рефлюксом  
с помощью регрессионного анализа и поправочных коэффициентов**

Показатель	Коэффициент регрессии	Ошибка коэф. регрессии	t-критерий Стьюдента	P значение
X <sub>6</sub> - Частота приступов удушья в течение суток	0,186512405	0,072873606	2,559395842	0,013493796
X <sub>7</sub> - Частота ночных приступов удушья	0,204904855	0,048997319	4,181960581	0,000113724
X <sub>17</sub> - Степень эзофагита по Savari-Miller	0,11681723	0,08012632	1,457913338	0,150995281
X <sub>19</sub> - pH в дистальном отделе пищевода	-0,135160251	0,095276842	-1,418605483	0,162096462
X <sub>34</sub> - Клетки желудка, продуцирующие мелатонин	-0,046044566	0,032985994	-1,395882321	0,168797341
X <sub>35</sub> - Клетки пищевода, иммунопозитивные к NO-синтазе	0,005411365	0,005167335	1,047225399	0,299933498
X <sub>36</sub> - Клетки пищевода, иммунопозитивные к эндотелину- I	0,014360297	0,007096537	2,023564062	0,048270292
X <sub>37</sub> - Клетки пищевода, иммунопозитивные к кальретицину	-0,017784657	0,007043502	-2,524973495	0,014722756

количество NO-синтаз-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{35}$ ); число эндотелии-1-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{36}$ ); число кальретинин-иммунопозитивных клеток пищевода ( $X_{37}$ ).

По результатам исследований предложена приведенная ниже формула, позволяющая разграничить по степени тяжести течения варианты БА, ассоциированной с ГЭРБ.

$$Y = 0,669598 + a_1x_6 + a_2x_7 + a_3x_{17} + a_4x_{19} + a_5x_{34} + a_6x_{35} + a_7x_{36} + a_8x_{37},$$

где Y - целевая функция,

$a_{1-8}$  - коэффициент регрессии (см. таблицу 4),

x - определяемые факторы,

$a_0 = 0,669598$  - константа

При подстановке в предложенную выше формулу клинико-инструментальных показателей у конкретного пациента и при получении значения  $Y < 1,133$ , можно диагностировать легкое течение БА, ассоциированной с ГЭРБ. При значениях уравнения у конкретного пациента  $1,14 \leq Y < 2,266$ , можно диагностировать средней степени тяжести БА, ассоциированную с ГЭРБ. При значениях уравнения  $Y \geq 2,266$ , можно диагностировать у больного тяжелую БА, ассоциированную с ГЭРБ. Предложенная диагностическая модель была проверена на контрольной выборке 23 пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни. Надежность диагностической модели составила 76,4% (средний процент ошибок между прогнозируемой и реальной тяжестью заболевания составил 23,6%, что допустимо для математического моделирования в медицине).

Использование метода регрессионного анализа позволит своевременно диагностировать ГЭРБ при БА, а также определять тяжесть течения сочетанной патологии.

## ВЫВОДЫ

1. Симптомы, типичные для гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, выявляются при целенаправленном опросе у 58% пациентов с бронхиальной астмой; при этом у 48,6% больных с соответствующими клиническими проявлениями обнаруживаются признаки эндоскопически позитивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

2. Для пациентов, страдающих бронхиальной астмой, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, характерны большая частота дневных и ночных приступов удушья в период обострения, а также большая частота госпитализаций в стационары, по сравнению с больными, имеющими изолированный вариант течения бронхиальной астмы.

3. Респираторные расстройства у больных с сочетанием бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни коррелируют с выраженностью эндоскопических и морфологических проявлений эзофагита.

4. Для сочетанного течения бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни характерно значительное снижение уровня рН в дистальной части пищевода по сравнению с пациентами, имеющими изолированно протекающие гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь или бронхиальную астму; при сочетанной патологии имеется обратная корреляция между значениями внутрипищеводной рН и тяжестью респираторных нарушений.

5. Степень Н. pylori-обсемененности антрального отдела желудка при бронхиальной астме значительно превышает аналогичный показатель у здоровых лиц, коррелирует с активностью антрального гастрита, тяжестью течения бронхиальной астмы, но не зависит от наличия гастроэзофагеального рефлюкса.

6. Бронхиальная астма, ассоциированная с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, характеризуется значительными нарушениями количественной плотности компонентов регуляторного звена пищевода и желудка: гиперплазией эпителиоцитов, продуцирующих NO-синтазу и эндотелин-1, уменьшением количества кальренин-продуцирующих

эпителиоцитов пищевода и мелатонинпродуцирующих клеток антрального отдела желудка.

7. Степень изменений морфометрических показателей компонентов диффузной эндокринной системы пищевода, продуцирующих NO-синтазу, эндотелии-1 и кальретицин, а также мелатонинпродуцирующих клеток желудка у больных бронхиальной астмой являются диагностически значимыми факторами в развитии патологического пищеводного рефлюкса, а также воспалительных изменений в пищеводе.

8. У пациентов с бронхиальной астмой, ассоциированной с гастроэзофагеальным рефлюксом, существенное диагностическое значение для определения тяжести течения сочетанной патологии имеют уровень внутрипищеводной рН и разнонаправленные изменения показателей регуляторного звена эзофагагастральной зоны: уменьшение количественной плотности эпителиоцитов пищевода, продуцирующих кальретицин, эпителиоцитов желудка, продуцирующих мелатонин, на фоне повышения морфометрических показателей эпителиоцитов пищевода, продуцирующих NO-синтазу и эндотелии-1.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с бронхиальной астмой необходим целенаправленный опрос, а при наличии соответствующих клинических симптомов (изжога, ретростериальные боли) - активный диагностический поиск для выявления гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.

2. На начальных этапах дифференциальной диагностики бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальным рефлюксом, и бронхиальной астмы, не связанной с рефлюксной патологией пищевода, целесообразно проведение омепразолового теста.

3. Для прогнозирования характера течения бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальным рефлюксом, и выделения среди пациентов группы риска тяжелого течения болезни целесообразно в периоде затухающего обострения определять внутрипищеводный рН и количественную



плотность эпителиоцитов пищевода, продуцирующих кальретинин, эндотелин-1, NO-синтазу, а также мелатонинпродуцирующих клеток желудка.

4. При определении показаний к антирефлюксной и антисекреторной терапии у пациентов с бронхиальной астмой следует учитывать степень снижения рН пищевода, изменения количественной плотности эпителиоцитов пищевода, продуцирующих кальретинин, эндотелин-1, NO-синтазу.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Е.А. Славкина. Частота встречаемости гастроэзофагеального рефлюкса и особенности течения гастродуоденальной патологии при бронхиальной астме/ И.В. Козлова, МГ. Шварц, Е.А. Славкина // Сибирский журн. гастроэнтерол. и гепатол. - 2002. -№14-15. - С.170-171.
2. Е.А. Славкина. Бронхиальная астма и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: взаимосвязи и взаимовлияния /И.В. Козлова, Е.А. Славкина // Проблемы гастроэнтерологии: Материалы Всерос. науч.-практ. конф.-Саратов,2002.-С.47-49.
3. Е.А. Славкина. Клинические и патогенетические особенности сочетания гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и бронхиальной астмы / И.В. Козлова, Е.А. Славкина // Успехи современного естествознания.-2003. -№4 - С.50.
4. Е.А. Славкина. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь с бронхолегочными проявлениями / И.В. Козлова, Е.А. Славкина. // Актуальные вопросы хирургии органов пищеварения, гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии:Сб. науч.тр. - Ростов - на - Дону,2003. - С.31-32.
5. Гастроэзофагеальный рефлюкс и морфометрические особенности клеток пищевода, продуцирующих мелатонин и кальретинин, при бронхиальной астме/ И.В. Козлова, И.М. Кветной, Е.А. Славкина, А.Л. Пахомова // Сибирский журн. гастроэнтерол. и гепатол.-2003.- № 16-17.- С.219-220.
6. NO-синтаз-продуцирующие клетки пищевода у пациентов с бронхиальной астмой /И.В.Козлова, И.М. Кветной, Е.А. Славкина, А.Л. Пахомова // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.-2003.-№2-3. -С.73
7. Е.А. Славкина. Бронхиальная астма / И.В. Козлова, Е.А. Славкина // Болезни органов дыхания у подростков /С.Ф. Шимчук, И.В. Козлова, Л.И. Лекарева:

Учебно-методическое пособие. Утв. ВУНМЦ МЗ РФ - Саратов: Изд-во СГМУ-2003. -С.54-82.

8. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь с внепищеводными проявлениями: клиника, диагностика, тактика ведения: Методические рекомендации/ Утв. ВУНМЦ МЗ РФ. Сост.: И.В. Козлова, Е.А. Славкина, С.В. Логинов. Саратов: Изд-во СГМУ- 2003-46с.

9. Структурные особенности пищевода у больных бронхиальной астмой/ И.В. Козлова, И.М. Кветной, Е.А. Славкина., А.Л. Пахомова // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. Приложение №21. Материалы 9-й Рос. гастроэнтерол. недели -2003.- Т. 13- №5- С.9.

10.В. Клинико-диагностическое значение определения эндотелии-1 и N0-синтазпродуцирующих клеток пищевода при бронхиальной астме/ И.В.Козлова, И.М. Кветной, Е.А.Славкина, АЛ. Пахомова // Астма -2003-Т.4- №1-С.101.

11. ЕЛ. Славкина. Immunohistochemical research methods of a mucous membrane of an esophagus in diagnostics and in estimation the weight of bronchial asthma's flow / Е.А. Славкина, И.В. Козлова // International Journal on Immunorehabilitation-2004-Т.6-N.1-P-44.

12. Е.А. Славкина. Бронхиальная астма, ассоциированная с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью: особенности диагностики и тактики ведения /И.В. Козлова, Е.А. Славкина: Информационное письмо. Утв. МЗ Саратовской области. - Саратов, 2004. 16 стр.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

БА	бронхиальная астма
ГЭР	гастроэзофагеальный рефлюкс
ГЭРБ	гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ЖЕЛ	жизненная емкость легких
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ФВД	функция внешнего дыхания
ХГ	хронический гастрит
ЭГДС	эзофагогастродуоденоскопия
FVC	форсированная жизненная емкость легких
FEV <sub>1</sub>	объем форсированного выдоха за 1 секунду
FEV <sub>25%</sub>	максимальная объемная скорость выдоха в момент, когда в легких остается 25% ЖЕЛ
FEV <sub>50%</sub>	максимальная объемная скорость выдоха в момент, когда в легких остается 50% ЖЕЛ
FEV <sub>75%</sub>	максимальная объемная скорость выдоха в момент, когда в легких остается 75% ЖЕЛ
H. pylori	Helicobacter pylori
NO	оксид азота

Библиотека литературы по функциональной гастроэнтерологии:  
<http://www.gastroscan.ru/literature/>

Редактор Л. А. Алехнович

Подписано к печати 27.05.04. Объем 1 печ.л. Тираж 100 экз.

Заказ . Отпечатано в ООО «РЭМ-графикс»  
410028, г. Саратов, ул. Мичурина, 98/102  
тел.: (8452) 22-30-70, 74-34-63  
факс: (8452) 22-49-16, 22-48-86