

На правах рукописи

Шабров Александр Валерьевич

**ОБОСНОВАНИЕ РАЦИОНАЛЬНОЙ ТАКТИКИ
РАННИХ ВНУТРИПРОСВЕТНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ
ПРИ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ ПИЩЕВОДА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Специальность 14.01.17 – Хирургия

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Нижний Новгород 2019

Диссертационная работа выполнена на кафедре «Хирургия» Медицинского института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пензенский государственный университет».

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
НИКОЛЬСКИЙ Валерий Исаакович.

Официальные оппоненты:

Власов Алексей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсами топографической анатомии и оперативной хирургии, урологии и детской хирургии;

Баландина Ирина Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий кафедрой нормальной, топографической и клинической анатомии, оперативной хирургии.

Ведущая организация: Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 18 апреля 2019 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д. 208.061.06 при ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1; с авторефератом – на официальном сайте ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

А. С. Мухин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Острые химические повреждения верхнего отдела желудочно-кишечного тракта в России занимают третье место в структуре острой химической травмы и составляют в среднем 8,5–42,5 % (А. Ф. Черноусов и соавт., 2000).

В 70 % случаев химическим веществом является уксусная кислота (Е. Л. Лужников, 1999; Б. Д. Доржиев и соавт., 2012), далее по частоте следуют едкий натр (натрия гидроокись, каустическая сода), концентрированные растворы хлористоводородной, серной кислот. Повреждения пищевода различной степени тяжести могут быть вызваны приемом таких веществ, как ацетон, формалин, нашатырный спирт, скипидар, медный купорос, перекись водорода и др. (Э. А. Годжелло и соавт., 2000, 2007; Н. Higaki-Mori et al., 2011).

С целью изучения регенерации стенки пищевода, а также для поиска лекарственных препаратов, ускоряющих процессы репарации данного органа, исследователи моделируют химический ожог пищевода на экспериментальных животных (С. Г. Рукевич и соавт., 2014; В. М. Воробьева и соавт., 2010, 2013; J. S. DosSantos et al., 2013; C. Z. Wang et al., 2015; K. A. Ku Cu et al., 2017). Одной из основных проблем моделирования химического ожога пищевода является сложность дозировки химического агента и, как следствие, большой процент гибели животных на этапе нанесения травмы. При химическом ожоге пищевода раствором кислот от 15 до 27 % экспериментальных животных погибают в первые сутки эксперимента (С. И. Колесников и соавт., 2009; С. Г. Рукевич и соавт., 2014). В последующие дни исследователи не отмечают высокого процента гибели животных. При химическом ожоге растворами щелочей с первых суток эксперимента отмечают некротические изменения в стенке пищевода и желудка, что дает высокий риск перфорации, и как следствие, гибель животных на первой неделе эксперимента (М. Л. Тыхенова и соавт., 2012).

Антиоксиданты нашли широкое применение при лечении ран, вызванных термическими, химическими, физическими факторами воздействия (Л. В. Гусева, 2006; И. Я. Моисеева и соавт., 2008; А. А. Кабанова и соавт., 2011; В. А. Доровских и соавт., 2014; А. А. Козка и соавт., 2015; О. С. Олифирова и соавт., 2016, 2017; S. Rehou et al., 2017). Под воздействием данных препаратов исследователи отмечают повышение интенсивности репаративных процессов в ранах как при местном использовании препарата (А. В. Гейниц и соавт., 2008; М. В. Вильдяева и соавт., 2015), так и при системной терапии (О. Н. Почепень и соавт., 2009; А. Н. Беляев и соавт., 2017). При включении в терапию антиоксидантных препаратов очищение гнойной раны от некротических масс происходит на порядок быстрее (О. С. Олифирова и соавт., 2015). Применение различных антиоксидантов позволяет на 60–70 % ускорить процессы регенерации и эпителизации раневого дефекта (А. В. Гейниц и соавт., 2008; А. А. Кабанова и соавт., 2011; А. А. Козка и соавт., 2015).

Отравления прижигающими жидкостями у взрослых сопровождаются большим количеством осложнений, наиболее серьезным из которых является формирование рубцовых сужений пищевода и желудка (В. И. Никольский и соавт., 2011, 2014; А. В. Климашевич и соавт., 2011, 2012; М. Л. Воскресенская и соавт., 2015). Рубцовые стриктуры пищевода развиваются у 33–74 % больных, перенесших химический ожог пищевода (Э. А. Годжелло и соавт., 2006, 2013), составляя около 70 % его стенозов (А. Ф. Черноусов и соавт., 2000; И. А. Баландина и соавт., 2007; В. Ю. Муравьев и соавт., 2015). Травматичность операций, их многоэтапность, несостоятельность швов пищеводно-кишечных анастомозов (12–54,6 % случаев), а также в последующем развитие рубцовых сужений анастомозов являются отрицательными моментами лечения данного заболевания (Э. А. Годжелло и соавт., 2013; О. И. Волков и соавт., 2014). Таким образом, профилактика и лечение послеожоговых рубцовых стриктур миниинвазивными методиками (бужирование и стентирование пищевода) на протяжении многих лет остается сложной и актуальной проблемой в хирургии (А. В. Климашевич и соавт., 2012; A. Repici et al., 2008), что, свою очередь, определяет необходимость в дифференцированном подходе к тактике ведения пациентов в зависимости от вида коррозионного вещества, сроков от момента химической травмы и выбора метода внутрипросветного вмешательства.

Степень разработанности проблемы. В настоящее время общепризнанно, что существуют различия в патогенезе химических ожогов пищевода различными химическими реагентами – кислотами и щелочами. Раствор кислоты приводит к развитию коагуляционного некроза пищевода с образованием плотного струпа, под которым развивается процесс воспаления (ожоговый эзофагит). Щелочные растворы вызывают омыление тканей с зоной некроза без образования струпа. Результатом ожога щелочью является глубокое поражение стенки органа, что способствует более частому, чем при поражении кислотой, развитию внеорганных осложнений (Е. А. Лужников и соавт., 1999).

После химической травмы пищевода отмечается гиперпродукция эндогенных радикалов-инициаторов, которые вместе с экзогенными прооксидантами запускают вторичные свободнорадикальные реакции. Отмечается увеличение концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Т. П. Пинчук, 2009).

Ведется поиск оптимальных лекарственных препаратов, направленных на улучшение результатов лечения больных химическими ожогами пищевода. В связи с этим исследователи создают модели химического ожога органа кислотами и щелочами в эксперименте (В. М. Воробьева и соавт., 2013).

Однако в результате различий в патогенезе ожогов пищевода щелочными растворами и растворами кислот до настоящего времени не создана оптимальная модель локального ожога пищевода, позволяющая предотвратить гибель животных на ранних этапах эксперимента. Также отсутствуют данные о процессах репарации стенки пищевода после ожогов щелочами и кислотами

на основании современных методов морфологических и биохимических исследований. В современной литературе не отмечено различий в эффективности влияния антиоксидантов на процесс регенерации стенки пищевода в связи с этиологией химического реагента.

В современной литературе нет определения четких сроков проведения ранних внутрипросветных вмешательств на пищеводе. По данным различных авторов, сроки проведения данных вмешательств на пищеводе колеблются в широких пределах – от двух до восьми недель, без соотношения данных сроков с процессами регенерации стенки пищевода, воздействием лекарственных препаратов-репаратанов (А. Н. Тарасов и соавт., 2010; А. В. Климашев и соавт., 2012; В. Л. Белевич, и соавт., 2012; Л. В. Матвеева с соавт., 2014; Т. В. Скажутина и соавт., 2016; D. A. Katzka, 2001). В связи с этим отсутствует дифференцированный подход к лечению пациентов при выборе методов ранних внутрипросветных вмешательств после химических ожогов пищевода. Все это явилось побудительным мотивом для выполнения настоящего исследования.

Цель: изучить влияние оксидантного стресса, эффективности воздействия антиоксидантов и особенности регенерации стенки пищевода после химических ожогов различными прижигающими жидкостями для определения оптимальных методов и сроков внутрипросветных вмешательств.

Задачи:

1. Создать модель локального ожога пищевода у экспериментальных животных кислотами и щелочами.

2. Изучить различия в темпах регенерации пищевода после химического ожога щелочью и кислотой.

3. Установить соответствие между динамикой оксидантного стресса и темпами регенерации стенки пищевода.

4. В условиях эксперимента определить динамику оксидантного стресса и установить эффективность воздействия антиоксидантов в зависимости от вида прижигающей жидкости.

5. На основании данных морфологического исследования и состояния системы прооксиданты–антиоксиданты разработать рациональную тактику ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода.

Научная новизна. Разработаны оптимальные экспериментальные модели химического ожога пищевода различными химическими реагентами: кислотами и щелочами. Впервые в эксперименте на кроликах выполнено моделирование химического ожога пищевода разработанными устройствами, химическими реагентами являлись 46 % уксусная кислота и 18,5 % раствор едкого натра. Получены два патента РФ на изобретение № 134422 от 20.11.2013 и № 163272 от 10.07.2016.

На основании результатов экспериментальных морфологических исследований и анализа лабораторных показателей маркеров оксидантного стресса определены темпы регенерации стенки пищевода после химического ожога и взаимосвязь темпов регенерации с процессами перекисного окисления липидов.

Впервые определено воздействие антиоксидантов на динамику оксидантного стресса и темпы регенерации стенки пищевода. Доказано избирательное влияние антиоксидантных препаратов в зависимости от природы химического реагента. Обнаружено, что введение антиоксидантных препаратов при химическом ожоге пищевода 46 % уксусной кислотой сокращает сроки репарации стенки органа на 9 дней. При ожоге пищевода раствором 18,5 % едкого натра отмечено незначительное влияние антиоксидантной терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы. Применение созданного устройства для моделирования локального химического ожога пищевода с дифференцированным подходом при использовании кислот и щелочей позволило предотвратить гибель экспериментальных животных на ранних этапах исследования.

Результаты проведенного исследования подтверждают теоретическую концепцию о дифференцированных процессах регенерации пищевода после химических ожогов пищевода кислотой и щелочью с различиями в балансе системы прооксиданты–антиоксиданты. Установленный факт позволяет формировать новые подходы к терапии ожогов пищевода различными химическими реагентами.

Установлено, что при химическом ожоге пищевода кислотными растворами показано применение препаратов с антиоксидантной активностью.

При химическом ожоге пищевода растворами щелочей назначение антиоксидантов нецелесообразно.

Разработана рациональная тактика ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода. В экспериментальной работе доказана целесообразность применения бужирования пищевода на 30-е сут после химического ожога пищевода раствором уксусной кислоты без применения антиоксидантного препарата и на 21-е сут с применением антиоксиданта, а также на 21-е сут после химического ожога раствором щелочи вне зависимости от включения антиоксидантных препаратов в терапию. При наличии высокого риска развития рубцовой стриктуры пищевода целесообразно применение стентирования пищевода биodeградируемыми стентами в аналогичные временные промежутки.

Создан лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода раствором кислоты и щелочи.

Положения, выносимые на защиту:

1. Для моделирования ожога пищевода щелочными растворами необходимо использовать разработанное устройство доставки химического реагента с вакуумной составляющей для локализации контакта прижигающей жидкости и стенки органа.
2. При химическом ожоге пищевода различными химическими реагентами имеется дифференциация в темпах регенерации стенки органа.
3. Динамика оксидантного стресса напрямую влияет на способность репарации пищевода после химического ожога.

4. Применение препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, обуславливает коррекцию дисбаланса в системе прооксиданты-антиоксиданты, способствуя увеличению темпов регенерации.

5. Применение ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода должно основываться на видах коррозионного вещества, определении сроков смен фаз воспаления в стенке пищевода и купирования оксидатного стресса.

Степень достоверности полученных результатов. Результаты, полученные с использованием современных методов исследования, свидетельствуют о решении поставленных задач. Выводы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики медико-биологического профиля с помощью критериев параметрической и непараметрической оценки достоверности с использованием программ «Biostat 2009» и «Microsoft Excel».

Внедрение в практику. Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре «Хирургия» Медицинского института ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», на кафедре «Общая и оперативная хирургия с топографической анатомией и курсом стоматологии» Медицинского института ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», в работу «Центра доклинических исследований», в лечебный процесс хирургического отделения ГБУЗ «Пензенская областная клиническая больница им. Н. Н. Бурденко».

Личный вклад автора заключается в определении цели и задач научного исследования, осуществлении подробного анализа современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, разработке плана исследования.

Диссертант непосредственно принимал участие во всех этапах исследования: проведении эксперимента на животных и последующем наблюдении за ними. Выполнял забор биологического материала для последующего анализа. Принимал участие в морфологическом и биохимическом исследовании полученных образцов. Проводил поиск доказательств эффективности сделанных им предложений, а также подробный анализ полученных результатов с последующей их статистической обработкой, сформулировал обоснованные выводы и разработал практические рекомендации.

Апробация работы. Результаты работы доложены на V Международной научной конференции «Актуальные проблемы медицинской науки и образования» г. Пенза, 2015 г.; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пенза ОАО «РЖД», V съезде хирургов юга России с международным участием, 2017 г.; Пензенском областном научно-практическом обществе хирургов им. С. В. Кульнева, 2011, 2013, 2015 гг.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета. Работа выполнена в рамках комплексной научной программы кафедры «Хирургия» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» в соответствии с тематическим планом кафедральных (индивидуальных) НИР на 2016–2020 гг., код ГРН 76.09.99. Исследование проведено при поддержке гранта Президента РФ МК-44 28.2011.7 от 18.02.2011 «Лечение пациентов с рубцовыми стриктурами пищевода».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.17 – хирургия: экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 9 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, одна публикация – в журнале на платформе Scopus. Получено два патента РФ на изобретение: № 134422 от 20.11.2013 и № 163272 от 10.07.2016.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, списка литературы, включающего 191 источник, в том числе 132 отечественных и 59 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 50 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Исследования на животных проводили в соответствии с приказом Минздрава СССР от 11.10.1983 и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003, требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986), международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (D. C. Washington, 1996), принципами ГОСТ 33044–2014 «Надлежащая лабораторная практика».

Работу выполняли на базе Медицинского института Пензенского государственного университета (директор института и заведующий кафедрой хирургии – д.м.н., профессор А. Н. Митрошин) и «Центра доклинических исследований» (директор центра И. В. Ефимова, ветеринарное удостоверение 258 № 0003806 от 23.12.2008, выдано ФГБОУ ВО «Пензенский государственный аграрный институт», сертификат аккредитации ООО «Технопарк "Сколково"» № 001154 от 01.12.2017). На проведение эксперимента было получено разрешение локального этического комитета Пензенского государственного университета (протокол № 9 от 30.10.2015).

В качестве экспериментальных животных были выбраны 72 половозрелых кролика-самца породы шиншилла массой не менее 3,5 кг и не более 5 кг. В процессе разработки экспериментальной модели отмечали гибель

9 особей, отсутствие формирования ожога пищевода у 3 кроликов. Таким образом, в исследование вошло 60 кроликов. Экспериментальных животных разделили на четыре группы по 15 особей в каждой группе: основную (с введением антиоксидантного препарата) и контрольную (с введением физиологического раствора). Моделировали ожог пищевода кроликов растворами кислоты и щелочи.

В качестве раствора кислоты была выбрана уксусная кислота, моделирование химического ожога пищевода щелочным раствором осуществляли с помощью раствора едкого натра.

Моделирование химического ожога пищевода раствором кислоты.

При химическом ожоге пищевода 70 % раствором уксусной кислоты в объеме 1 мл три кролика умерли на 2-е сут эксперимента. При аутопсии верифицирован химический ожог пищевода без явлений перфорации, причиной смерти явился экзотоксический шок. На следующем этапе эксперимента концентрация кислоты была уменьшена до 30 %. Экспериментальные животные выжили до конца исследования, но, по данным аутопсии, явлений химического ожога пищевода не отмечено. В результате принято решение о повышении концентрации кислоты до 46 %.

Создавали ожог пищевода путем экспозиции 46 % раствором уксусной кислоты в течение 1 мин в объеме 1 мл с использованием устройства доставки уксусной кислоты (рисунок 1).

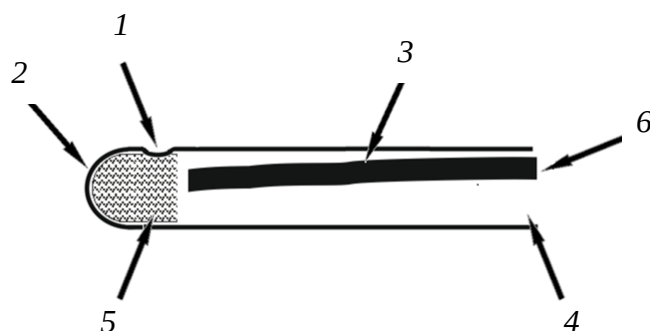


Рисунок 1 – Устройство доставки уксусной кислоты: 1 – боковое отверстие; 2 – слепо заканчивающийся конец; 3 – капилляр в просвете; 4 – проксимальный конец; 5 – марлевый тампон; 6 – введение кислоты

Моделирование химического ожога пищевода раствором щелочи.

Моделирование химического ожога щелочным раствором выполняли с использованием 30 % раствора едкого натра. Результатом воздействия раствора щелочи явилась гибель экспериментальных животных в течение 3 сут. В связи с этим концентрация раствора была уменьшена до 18,5 %, но в последующем эксперименте один кролик из трех умер на 3-и сут, двое кроликов умерли на 7-е сут эксперимента.

С целью предотвращения гибели животных было разработано устройство для доставки щелочного раствора. Отличительной особенностью устрой-

ства являлось наличие инструмента для создания отрицательного давления в просвете зонда. За счет созданного в просвете зонда вакуума происходило сближение стенки пищевода и зонда в зоне боковых отверстий. Через боковые отверстия осуществлялась аспирация химического реагента, попавшего в просвет пищевода через дистальное отверстие капилляра. В результате химическое вещество ограничено контактировало со стенкой пищевода подопытного животного.

Создавали ожог пищевода раствором щелочи путем экспозиции 18,5 % едкого натра в течение 1 мин в объеме 3 мл с помощью устройства для доставки щелочного раствора (рисунок 2).

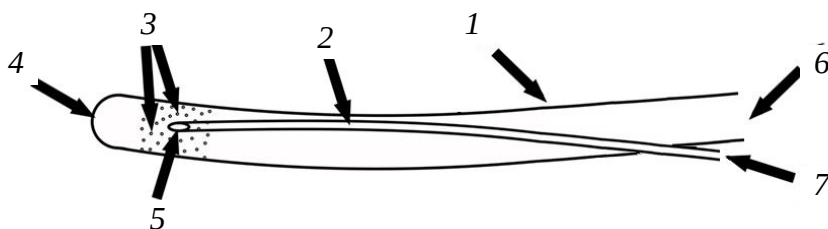


Рисунок 2 – Устройство доставки щелочного раствора:

- 1 – полиэтиленовая трубка; 2 – капилляр в просвете; 3 – боковые отверстия на дистальном конце; 4 – слепо заканчивающийся конец; 5 – дистальное отверстие капилляра, открывающееся непосредственно на боковой стенке зонда; 6 – проксимальный конец, к которому крепится инструмент для создания отрицательного давления; 7 – введение раствора щелочи

В дальнейшем, начиная с 1-х сут с момента формирования ожога и на протяжении последующих 14 дней, кроликам основных групп внутримышечно вводили препарат Мексидол. Международное непатентованное название препарата – этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС). Расчет дозы выполняли на основании значения показателя разовой дозы для человека из инструкции по применению данного лекарственного средства с учетом коэффициентов для межвидового переноса доз, зависящих от массы тела: для человека данный коэффициент при массе 70 кг составляет 39, для кролика с массой 3,5 кг – 18,5.

Однократная доза препарата составила 5 мг/кг массы тела экспериментального животного. Лекарственное средство вводили внутримышечно три раза в день. Суточная доза ЭМГПС составила 15 мг/кг массы тела кролика.

У экспериментальных животных основных и контрольных групп выполняли забор крови на 5, 14, 21, 30, 45-е сут.

Животных основных и контрольных групп выводили из эксперимента на 5, 14, 21, 30, 45 и 60-е сут путем передозировки эфира в соответствии с рекомендациями Конвенции по защите животных, принятой Советом Европы в 1986 г.

Морфологическое исследование полученного материала проводили на базе ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Медицинский институт, кафедра «Клиническая морфология и судебная медицина с курсом онкологии (заведующий кафедрой и соисполнитель работы – к.м.н., доцент М. Г. Федорова).

Светооптическое исследование окрашенных срезов проводили с помощью микроскопа фирмы «CarlZeiss» под увеличением от 40 до 400 раз. Морфометрическое исследование выполняли с использованием фотографической насадки к микроскопу «Axioskop». Посредством программ «Axiovision» и «ImageTool v.3.0» на микрофотографиях проводили подсчет следующих элементов: количество нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов, толщину эпителия пищевода, площадь новообразованных сосудов микроциркуляторного русла.

Биохимическое исследование образцов сывороток крови проводили на базе ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Медицинский институт, кафедра «Физиологии человека» (заведующий кафедрой – д.м.н., профессор Н. И. Микуляк, соисполнитель работы – к.б.н., доцент О. П. Петрушова), с определением следующих параметров: уровни диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, уровень малонового диальдегида (МДА), уровень каталазы, уровень церулоплазмينا (ЦП), уровень супероксиддисмутазы (СОД).

Результаты исследования

Результаты морфологического исследования. При сопоставлении данных морфологического исследования контрольных групп экспериментальных животных после химического ожога пищевода растворами щелочи и кислоты без применения ЭМГПС выявлены отличия в темпах регенерации пищевода. После ожога пищевода раствором 46 % уксусной кислоты отмечено преобладание количества лимфоцитов, лейкоцитов в первые 30 сут, площади новообразованных сосудов с 14-х по 30-е сут и толщины эпителия с 30-х по 60-е сут после химической травмы по сравнению с аналогичными периодами при ожоге щелочным раствором (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Сводная таблица исследованных морфологических элементов после химического ожога 46 % раствором уксусной кислоты в основной и контрольной группах (Me, $n = 30$)

Показатель	5-е сут		14-е сут		21-е сут		30-е сут		45-е сут		60-е сут	
	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ
Лейкоциты (ед. в полях зрения)	95	91	39*	18*	20	15	19*	Ед.*	–	–	–	–
Лимфоциты (ед. в полях зрения)	18	15	33	38	48*	32*	20*	Ед.*	–	–	–	–
Площадь новообразованных сосудов (мкм ² /мм ²)	–	–	528,53*	1806,11*	707,78*	1922,17*	2466,99	2086,22	–	–	–	–
Толщина эпителия (мкм)	–	–	–	–	–	–	92,95	95,08	185,47	162,12	202,06	237,46

Примечание. * – $p < 0,05$; КГ – контрольная группа; ОГ – основная группа.

Таблица 2 – Сводная таблица исследованных морфологических элементов после химического ожога 18,5 % раствором едким натром в основной и контрольной группах (Ме, $n = 30$)

Показатель	5 сут		14 сут		21 сут		30 сут		45 сут		60 сут	
	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ
Лейкоциты (ед. в полях зрения)	10*	17*	8 [#]	8 [#]	5 [#]	Ед. [#]	–	–	–	–	–	–
Лимфоциты (ед. в полях зрения)	6 [#]	7 [#]	7 [#]	8 [#]	12*	9*	–	–	–	–	–	–
Площадь новообразованных сосудов (мм ² /мм ²)	–	–	53,3 [#]	57,6 [#]	67,2 [#]	78,5 [#]	75,6 [#]	78,5 [#]	–	–	–	–
Толщина эпителия (мкм)	–	–	–	–	–	–	43,5 [#]	45,8 [#]	54,4 [#]	53,2 [#]	107,7 [#]	110,5 [#]

Примечание. * – $p < 0,05$; [#] – $p > 0,05$.

При анализе результатов в группе экспериментальных животных после химического ожога 46 % раствором уксусной кислоты выявлено улучшение регенераторных процессов в пищеводе при введении ЭМГПС. Площадь новообразованных сосудов была больше в 3 раза в основной группе с 14-х сут, чем в группе контроля. Лимфоциты и лейкоциты в стенке органа отмечали до 21-х сут в основной группе и до 30-х сут в контрольной, что свидетельствовало об окончании процессов воспаления (таблица 1). Таким образом, ожоговый эзофагит после воздействия раствора уксусной кислоты при введении ЭМГПС купировался раньше на 9 сут или на 15 % быстрее, чем без включения препаратов этой группы.

При анализе результатов в группе экспериментальных животных после химического ожога 18,5 % раствором едкого натра выявляли статистически значимую разницу на 5-е и 21-е сут эксперимента при определении морфологических элементов воспаления ($p < 0,05$), в остальные временные промежутки и при подсчете площади новообразованных сосудов, толщины эпителия статистически значимых различий в контрольной и основной группах не выявлено ($p > 0,05$) (таблица 2), что свидетельствует о незначительном положительном влиянии ЭМГПС на процесс регенерации стенки органа при ожоге едким натром.

При морфологическом исследовании образцов пищевода подопытных животных молодые новообразованные сосуды выявляли на 14-е сут, площадь сосудов была больше в основных группах по сравнению с контрольными, достигая максимума на 30-е сут исследования. Выраженную разницу между значениями данного показателя в контрольной и основной группах отмечали при исследовании ожогов пищевода уксусной кислотой ($p < 0,05$). Так, площадь новообразованных сосудов была больше в основной группе на 14-е сут эксперимента в 3 раза ($p < 0,05$), а на 21-е сут в 2,5 раза относительно контрольной группы ($p < 0,05$).

Таким образом, при ожоге, нанесенном щелочным раствором, интенсивность и выраженность воспалительных реакций значительно уступает таковой при ожоге, нанесенном кислотой. При повреждении щелочью преобладали некротические и дистрофические процессы, действие ЭМГПС было выражено незначительно. Препарат антиоксидантного ряда способствовал ускорению купирования воспалительной реакции при ожоге уксусной кислотой и не оказывал воздействия на данный процесс при ожоге едким натром. Введение ЭМГПС улучшало регенераторные процессы в стенке пищевода, усиливая кровоснабжение ожоговой поверхности после ожога пищевода кислотой.

Результаты исследования состояния системы перекисного окисления липидов. При сравнении маркеров оксидантного стресса в контрольных группах после химического ожога пищевода растворами кислоты и щелочи выявлен ряд отличий. На 2-е сут эксперимента уровень каталазы в плазме крови кроликов был повышен в 4,5 раза после ожога кислотой, в то же время в группе ожогов щелочными растворами повышение отмечали только в 1,8 раза. Нормализация показателей ферментов антиоксидантной защиты (каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмин) была отмечена на 21-е сут в группе химических ожогов едким натром и на 30-е сут в группе химических ожогов уксусной кислотой. Значения показателей прооксидантов (диеновые и триеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) имели тенденцию к быстрому увеличению значений непосредственно после химической травмы с последующим ростом показателей до 21-х сут эксперимента в группе химических ожогов щелочными растворами и до 30-х сут в группе химических ожогов кислотами (таблицы 3, 4). Данная дифференциация обусловлена различием в процессах регенерации стенки пищевода после химического ожога. Едкий натр, контактируя со стенкой органа, вызывал деструкцию тканей с последующим отторжением некротизированного струпа к 14-м сут. В то же время раствор кислоты оказывал меньшее деструктивное действие на стенку органа, но способствовал затягиванию смен фаз воспаления. В результате снижение концентрации продуктов перекисного окисления липидов и восстановление активности ферментов-антиоксидантов происходило в разные временные сроки в исследуемых группах.

Использование ЭМГПС при ожоге пищевода раствором 46 % уксусной кислоты способствовало скорейшему снижению показателей прооксидантной системы. При анализе показателей продуктов ПОЛ выявлено, что разница между значениями малонового диальдегида на 21-е сут в группах сравнения составила 61 % (больше в контрольной группе) при $p < 0,05$. В то же время в основной группе имела тенденция к нормализации показателей антиоксидантной системы в более ранние сроки относительно контрольной группы. На 14-е и 21-е сут эксперимента активность супероксиддисмутазы в основной группе составила на 18 и 17 % соответственно выше относительно группы контроля ($p < 0,05$).

Таблица 3 – Сводная таблица значений маркеров перекисного окисления липидов после химического ожога 46 % уксусной кислотой в основной и контрольной группах (Me, $n = 30$)

Показатель		Исходное значение	2-е сут	5-е сут	14-е сут	21-е сут	30-е сут	45-е сут
Каталаза (мгH ₂ O ₂ /мин/г)	КГ	0,0182	0,0819	0,0655*	0,0319*	0,0300	0,0228	0,0223
	ОГ	0,0182	0,0802	0,0568*	0,0266*	0,0294	0,0231	0,023
ЦП (мг/л)	КГ	5701,25	5065,2	2669,6	4132,5*	4332,1*	5917,2	5835,3
	ОГ	5701,25	5274,5	3018,7	4542,1*	5620,1*	6034,8	6010,4
СОД (усл. ед./мг белка)	КГ	6,12	3,3	2,673	3,230*	3,818*	5,98	6,72
	ОГ	6,12	3,399	2,983	3,947*	4,598*	6,1594	6,7872
ДК и ТК (усл. ед./мг липидов)	КГ	ДК	1,6277	5,026	5,641	6,643*	6,4025*	4,83
		ТК	1,75125	4,511	5,104	5,79*	6,09*	3,612
	ОГ	ДК	1,6277	5,169	5,246	5,146*	4,4335*	2,6235
		ТК	1,75125	4,739	4,594	4,123*	3,3957*	2,7995
МДА (нМоль/г белка)	КГ	2,137	6,057	6,625	6,192*	6*	3,286*	2,109
	ОГ	2,137	5,747	5,976	4,964*	3,721*	2,8007*	1,4341

Примечание. * – $p < 0,05$.

После химического ожога пищевода 18,5 % раствором едкого натра изменения в количественных характеристиках ферментов в антиоксидантных и прооксидантных системах подопытных животных свидетельствовали о незначительном положительном влиянии ЭМГПС на процесс перекисного окисления липидов. Так, на 14-е сут эксперимента концентрацию диеновых конъюгатов выявляли в основной группе только на 9 % меньше, чем в контрольной группе. Концентрация триеновых конъюгатов была на 12 % меньше, чем в контрольной ($p < 0,05$). В этот временной промежуток в основной группе отмечали на 14 % выше активность супероксиддисмутаза, чем в контрольной группе. На 14-е сут эксперимента в основной группе активность каталазы составила на 15 % меньше, чем в контрольной ($p < 0,05$).

Таблица 4 – Сводная таблица значений маркеров перекисного окисления липидов после химического ожога 18,5 % раствором едкого натра в основной и контрольной группах (Me, $n = 30$)

Показатель		Исходное значение	2-е сут	5-е сут	14-е сут	21-е сут	30-е сут	45-е сут
Каталаза (мгH ₂ O ₂ /мин/г)	КГ	0,0182	0,033	0,028	0,027*	0,0191	0,0190	0,0203
	ОГ	0,0182	0,0350	0,0264	0,0229*	0,0185	0,0225	0,0233
ЦП (мг/л)	КГ	5701,25	5600	2625	4687,5*	5337,5*	5906,25	5950
	ОГ	5701,25	5886,5	2940	4901,2*	5778,7*	6247,5	5652,5
СОД (усл. ед./мг белка)	КГ	6,12	2,8	2,1	3,64*	5,8	7,6	6
	ОГ	6,12	2,925	2,32	4,22725*	6,1902	7,07	6,12
ДК и ТК усл. ед./мг липидов)	КГ	ДК	1,6277	3,975	3,96	4,83258*	2,561	2,015
		ТК	1,75125	3,375	3,735	4,245*	1,65375	1,84875
	ОГ	ДК	1,6277	3,7662	3,712	4,35099*	2,3296	1,6277
		ТК	1,75125	3,3487	3,5065	3,73425*	1,53953	1,45792
МДА (нМоль/г белка)	КГ	2,137	5,95	5,3*	4,92*	4,3*	3,2	1,9
	ОГ	2,137	5,587	4,94*	4,56*	3,397*	2,374	1,267

Примечание. * – $p < 0,05$.

Таким образом, воздействие раствора кислоты или щелочи на слизистую оболочку пищевода приводило к некрозу стенки органа с развитием выраженного дисбаланса в системе прооксиданты–антиоксиданты. Данный первичный дисбаланс поддерживался развивающимся ожоговым эзофагитом и являлся неспецифическим процессом относительно химической природы реагента. Значения маркеров ПОЛ достигали максимума отклонения от нормы на 5-е сут эксперимента, что связано с наиболее выраженными процессами воспаления в данный временной промежуток. Кислота как слабый электролит не вызывала столь грубых деструктивных изменений в стенке органа, но в то же время в результате резорбции из просвета желудочно-кишечного тракта способствовала усилению процессов перекисного окисления липидов. Восстановление баланса в системе прооксиданты–антиоксиданты верифици-

ровали к 21-м сут эксперимента в основной группе после ожогов уксусной кислотой и в группе ожогов пищевода растворами щелочи независимо от использования ЭМГПС. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления регистрировали на 30-е сут эксперимента. Явления ожогового эзофагита отмечали до 21-х сут эксперимента в контрольной и основной группах ожога пищевода раствором едкого натра и в основной группе ожога пищевода уксусной кислотой. В контрольной группе после химического ожога пищевода кислотой подобные явления отмечали до 30-х сут эксперимента.

Таким образом, в эксперименте создана модель локального ожога пищевода 46 % раствором уксусной кислоты и 18,5 % раствором едкого натра. При химическом ожоге пищевода щелочным раствором выявлена необходимость снижения площади соприкосновения прижигающей жидкости со стенкой органа, уменьшения объема раствора едкого натра, остающегося в просвете пищевода. В связи с чем выполнена модификация устройства для доставки химического реагента в виде включения вакуум-аспиратора. Результатом чего явилось отсутствие гибели животных на начальных этапах эксперимента от внеорганных осложнений.

Выявлена дифференциация в темпах регенерации стенки пищевода после химического ожога кислотой и щелочью. Отмечено замедление смен фаз воспаления после химического ожога уксусной кислотой относительно ожога едким натром на 9 сут, или 15 %. В этот же временной промежуток обнаружено восстановление баланса в системе прооксиданты–антиоксиданты в вышеперечисленных группах, что свидетельствует о непосредственной связи уровня оксидантного стресса и темпов регенерации стенки пищевода после химического ожога.

Выявлено положительное влияние ЭМГПС на процессы ПОЛ и репарацию стенки пищевода после химического ожога. В группе экспериментальных животных с моделью ожога уксусной кислотой воздействие антиоксиданта приводило к более раннему восстановлению баланса прооксидантов–антиоксидантов. Сроки восстановления баланса меньше на 9 дней, или 15 %, при введении ЭМГПС, что имело отражение в положительных сдвигах в темпах регенерации стенки органа. Смена фаз воспаления проходила аналогично на 9 сут, или 15 %, быстрее в группах животных, получавших ЭМГПС. При оценке воздействия антиоксиданта на процессы ПОЛ и регенерацию стенки пищевода после химического ожога раствором едкого натра отмечено незначительное положительное влияние антиоксидантного препарата.

Клиническое применения результатов эксперимента

С учетом проведенного исследования выстроен лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода с применением внутрипросветных вмешательств на пищеводе (рисунок 3).

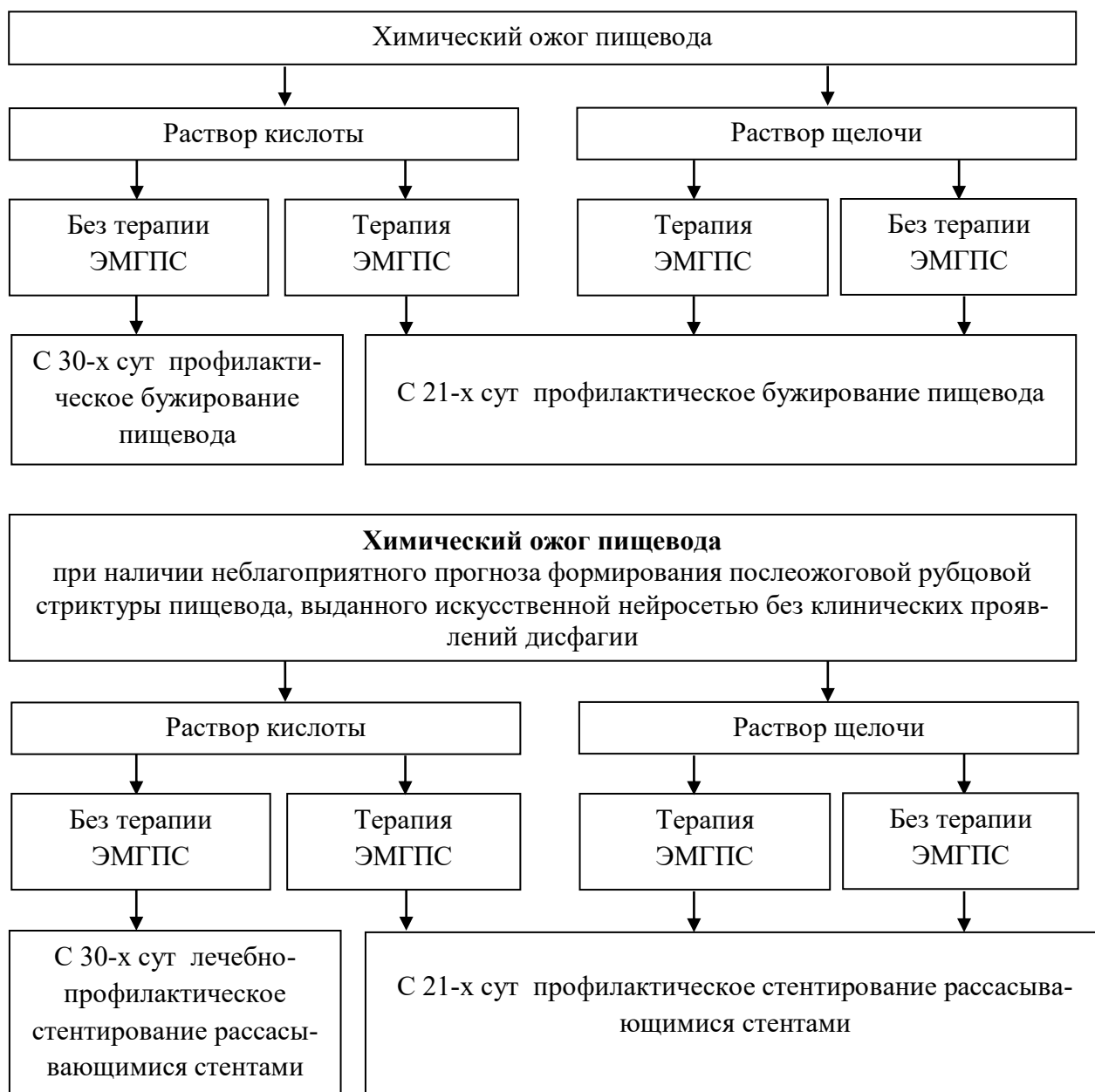


Рисунок 3 – Лечебно-профилактический алгоритм при химическом ожоге пищевода раствором кислоты и щелочи

По результатам проведенного эксперимента выявлено, что с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию ЭМГПС), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи в стенке пищевода отсутствует гиперпролиферация фиброцитов и, как следствие, отложение коллагеновых волокон и рубцевание стенки пищевода, а также в этот временной промежуток определяется эпителизация пищевода, что позволяет выполнить внутрипросветные дилатирующие вмешательства. Таким образом, в данном случае целесообразно выполнение превентивного бужирования пищевода с целью профилактики развития рубцовой стриктуры пищевода.

С 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию ЭМПС), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи при наличии неблагоприятного прогноза формирования послеожоговой рубцовой стриктуры пищевода, выданного искусственной нейросетью, без клинических проявлений дисфагии (О. В. Богонина, 2013) целесообразно выполнять лечебно-профилактическое стентирование пищевода биodeградируемыми стентами. В данный временной интервал в стенке пищевода процессы воспаления, а соответственно инфильтрация лейкоцитарными клетками, минимальны, что предотвращает раннюю резорбцию материала стента.

ВЫВОДЫ

1. Создана модель устройства для доставки химического реагента с вакуумной составляющей, которая позволила избежать гибели животных на начальных этапах эксперимента от внепищеводных осложнений при моделировании химического ожога раствором щелочи.

2. Темпы регенерации пищевода превалируют в группе химических ожогов щелочным раствором. Сроки воспаления уменьшаются после химического ожога пищевода щелочью на 15 % относительно ожога кислотой ($p < 0,05$). Площадь новообразованных сосудов после химического ожога кислотой в 10 раз больше ($p < 0,05$), чем при ожоге щелочью и, как следствие, отмечается увеличение толщины эпителия – на 60-е сут. Данный показатель в 2 раза больше ($p < 0,05$) в группе животных, получивших ожог пищевода кислотой.

3. Наиболее выраженные сдвиги в системе прооксиданты–антиоксиданты отмечаются сразу после нанесения химической травмы. Темпы регенерации стенки пищевода соответствуют балансу в системе оксиданты–антиоксиданты. Оксидазный стресс нивелируется после купирования воспалительных явлений в стенке органа на 30-е сут после химического ожога раствором кислоты и на 21-е сут после химического ожога раствором щелочи. Различия в показателях ферментов-антиоксидантов и продуктов перекисного окисления липидов на 21-е сут после химического ожога кислотой и щелочью статистически значимы ($p < 0,05$), на 30-е сут статистически значимой разницы не выявлено ($p > 0,05$).

4. Применение этилметилгидроксипиридина сукцината при химическом ожоге пищевода раствором уксусной кислоты ускоряет нормализацию показателей ферментов прооксидантов и антиоксидантов на 15 % ($p = 0,045$). Сроки купирования ожогового эзофагита меньше на 15 % ($p = 0,038$), кровоснабжение ожоговой поверхности, судя по площади ангиогенеза, интенсивнее в 2,5–3 раза ($p = 0,036$). При химическом ожоге пищевода раствором щелочи антиоксиданты оказывают незначительный положительный эффект как на процессы перекисного окисления липидов, так и на темпы регенерации стенки органа.

5. Разработана рациональная тактика ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода в эксперименте, основанная на морфологических данных о различиях в регенерации стенки пищевода в зависимости от вида коррозионного вещества и применения антиоксидантов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для формирования экспериментального ожога пищевода щелочными растворами целесообразно использовать устройство, имеющее в своем составе вакуум-аспиратор, для удаления химического реагента из просвета пищевода.

С целью ускорения смены фаз воспаления, улучшения процессов репарации стенки пищевода после химического ожога растворами кислот рекомендовано применение этилметилгидроксипиридина сукцината. Применение данного препарата при химическом ожоге пищевода растворами щелочей нецелесообразно ввиду незначительного положительного эффекта.

Рекомендовано применение этилметилгидроксипиридина сукцината при ожоге пищевода растворами кислот в сроки с 1-х до 30-х сут от момента получения химической травмы.

Целесообразно применение превентивного бужирования пищевода с 30-х сут после химического ожога пищевода раствором кислоты (с 21-х сут при включении в терапию этилметилгидроксипиридина сукцината), с 21-х сут после химического ожога пищевода раствором щелочи. При наличии высокого риска развития стриктуры пищевода показано лечебно-профилактическое стентирование пищевода рассасывающимися стентами из полидиоксанона.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Климашевич, А. В. Способ прогнозирования рубцовых стриктур пищевода после химических ожогов** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, А. А. Акимов, А. В. Шабров // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 2. – С. 79–82.

2. **Климашевич, А. В. Стентирование пищевода при послеожоговых рубцовых стриктурах** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, А. А. Акимов, А. В. Шабров // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 2. – С. 83–87.

3. **Климашевич, А. В. Оптимальные сроки профилактики и лечения послеожоговых рубцовых стриктур пищевода** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, Р. Э. Кувакова, А. В. Шабров // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 3 (ч. 1). – С. 83–87.

4. **Климашевич, А. В. Оптимальный способ бужирования пищевода при послеожоговых рубцовых стриктурах пищевода** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, В. А. Назаров, О. В. Богонина, А. В. Шабров // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 3. – С. 88–91.

5. **Никольский, В. И. Определение оптимальных сроков стентирования пищевода на модели химического ожога пищевода в эксперименте** / В. И. Никольский, А. В. Климашевич, М. Г. Федорова, А. С. Купрюшин, Н. В. Купрюшина, А. В. Шабров // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 2 (30). – С. 15–22.

6. **Климашевич, А. В. Современные методы внутрипросветного лечения и профилактики послеожоговых рубцовых стриктур пищевода** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, А. Н. Митрошин, О. В. Калмин, К. И. Сергацкий, А. В. Шабров / Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 291–295.

7. **Климашевич, А. В. Влияния антиоксидантной терапии на регенерацию стенки пищевода после химического ожога прижигающими жидкостями** / А. В. Климашевич, А. В. Шабров // Актуальные вопросы хирургии : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 85-летию НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пенза ОАО «РЖД» / НУЗ «Отделенческая клиническая больница на ст. Пенза ОАО «РЖД» ; ГБОУ ДПО «Пензенский институт усовершенствования врачей» Минздрава России. – Пенза, 2015. – С. 212–216.

8. **Шабров, А. В. Изучение влияния антиоксидантов на регенерацию тканей пищевода после химического ожога** / А. В. Шабров // Актуальные проблемы медицинской науки и образования (АПМНО-2015) : сб. ст. V Междунар. науч. конф. / под ред. А. Н. Митрошина, С. М. Геращенко. – Пенза, 2015. – С. 392–394.

9. **Климашевич, А. В. Влияние антиоксидантов на репарацию тканей пищевода после экспериментального химического ожога уксусной кислотой** / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, А. В. Шабров // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 12. – С. 26–29.

10. **Никольский, В. И. Морфологическая характеристика изменений в зоне ожога пищевода в случае применения в терапии мексидола** / В. И. Никольский, А. В. Климашевич, М. Г. Федорова, Н. С. Аверкин, А. В. Шабров // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 3 (31). – С. 19–29.

11. **Никольский, В. И. Сравнительная характеристика влияния антиоксидантов на процесс регенерации тканей пищевода после ожога щелочью и кислотой (экспериментальное исследование)** / В. И. Никольский, А. В. Климашевич, М. Г. Федорова, А. В. Шабров // V Съезд хирургов Юга России с международным участием : тезисы (18–19 мая 2017 г.) / ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. – Ростов н/Д : Изд-во РостГМУ, 2017. – 588 с.

12. **Шабров, А. В. Состояние системы перекисного окисления липидов на фоне воздействия антиоксидантов после химического ожога пищевода в эксперименте** / А. В. Шабров // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2018. – № 2 (46). – С. 72–79.

Изобретения

13. Пат. 134422 Российская Федерация, МПК А 61В 18/14. Устройство для моделирования локального ожога пищевода у экспериментальных животных / Никольский В. И., Климашевич А. В., Шабров А. В. ; заявитель и патентообладатель Пенз. гос. ун-т. – № 2013123887/14 ; заявл. 24.05.2013 ; опубл. 20.11.2013, Бюл. № 32. – 2 с.

14. Пат. 163272 Российская Федерация, МПК G 09В 23/28. Устройство для создания модели локального ожога пищевода у экспериментальных животных / Никольский В. И., Климашевич А. В., Шабров А. В. ; заявитель и патентообладатель Пенз. гос. ун-т. – № 2015152732/14 ; заявл. 08.12.2015 ; опубл. 10.07.2016, Бюл. № 19. – 2 с.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДК – диеновые конъюгаты

КГ – контрольная группа

МДА – малоновый диальдегид

ОГ – основная группа

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД – супероксиддисмутаза

ТК – триеновые конъюгаты

ЦП – церулоплазмин

ЭМГПС – этилметилгидроксипиридина сукцинат

Научное издание

Шабров Александр Валерьевич

**ОБОСНОВАНИЕ РАЦИОНАЛЬНОЙ ТАКТИКИ
РАННИХ ВНУТРИПРОСВЕТНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ
ПРИ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ ПИЩЕВОДА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Специальность 14.01.17 – Хирургия

Редактор *А. Г. Темникова*
Технический редактор *Р. Б. Бердникова*
Компьютерная верстка *Р. Б. Бердниковой*

Подписано в печать 14.02.2019. Формат 60×84¹/₁₆.
Усл. печ. л. 1,28. Заказ № 27. Тираж 100.

Издательство ПГУ.
440026, Пенза, Красная, 40.
Тел./факс: (8412) 56-47-33; e-mail: iic@pnzgu.ru