

*На правах рукописи*

НИКОЛЕНКО  
Людмила Александровна

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ  
РАЗВИТИЯ ВАРИКОЗНОГО РАСШИРЕНИЯ ВЕН ПРИ  
ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

14.03.03-патологическая физиология

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

Екатеринбург-2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук

**Головнева Елена Станиславовна**

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук

**Алехин Дмитрий Иванович**

**Официальные оппоненты:**

**Мещанинов Виктор Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России

**Павлов Владимир Александрович**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник кафедры естественных научных дисциплин ФГБУ ВПО «Уральский университет физической культуры»

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «5» сентября 2013 года в 10 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Д 208.102.03, созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В.Н. Климова ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России по адресу: 620028, Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, а с авторефератом на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru) и на сайте академии [www.usma.ru](http://www.usma.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета  
д.м.н., профессор



**Базарный Владимир Викторович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В России различными формами варикозной болезни (ВБ) страдает более 30 млн. человек (Савельев В.С., 2001, Калинин С.Ю., 2007; Богачёв В.Ю., 2008), из них 2/3 составляют женщины, в 60-80% случаев заболевание связано с беременностью (Омарова Х.М., 2007). Известно, что заболевание имеет хроническое рецидивирующее течение, приводя к снижению качества жизни больных и является потенциальным источником тромбогенных осложнений, риск которых увеличивается с возрастом, в послеродовом и послеоперационном периодах (Кириенко А.И., 2006, Шибельгут Н.М., 2010). Частота тромбоэмболических осложнений, связанных с ВБ, возрастает до 10% и до настоящего времени является одной из основных причин материнской смертности в развитых странах (Стойко Ю. М., 2007).

Согласно современным представлениям, варикозная болезнь является одним из частых проявлений дисплазии соединительной ткани (ДСТ) (Цуканов Ю.Т., 2002; Клемёнов А.В., 2004, Кадурина Т.Н., 2009). Среди практически здоровых лиц до 35% имеют ДСТ той или иной степени выраженности, 70% из них составляют женщины (Викторова И.А., 2004; Кадурина Т.Н., 2009).

В литературе имеются противоречивые данные о зависимости между степенью тяжести дисплазии соединительной ткани и наличием сосудистой патологии (Куликов А.М., 2000; Цуканов Ю.Т., 2002, Кадурина Т.Н., 2009). Показана роль дефицита магния в патогенезе первичного пролапса митрального клапана (ПМК), как одного из проявлений дисплазии соединительной ткани (Мартынов А.И., 1998-2009, Bobkowski W. et.al. 2005). Механизмы влияния дефицита магния связывают с активацией оксидативного стресса в соединительной ткани, повышением активности протеолитических ферментов (Kumaran S., Shivakumar K., 2001), нарушением пролиферативных, миграционных и адгезивных характеристик эндотелия (Adrian M. et.al., 2008, Baldoni E., Maier J.A., 2012). Однако до настоящего времени отсутствует единство в понимании роли ионов магния в патогенезе варикозной болезни. При этом остаются неизученными взаимосвязи между уровнем магния в биологических жидкостях организма и состоянием стенки венозных сосудов, в частности изменением диаметра и эластичности.

Показана роль гормонального дисбаланса во время беременности как одного из пусковых факторов развития ВБ (Савельев В.С., 2001, Золотухин И.А., 2005; Кириенко А.И., 2006). Однако исследований, посвящённых изучению взаимосвязи уровня прогестерона у беременных женщин и состояния стенок вен практически нет. Сведения о состоянии показателей обмена соединительной ткани у женщин с гормональным дисбалансом немногочисленны и весьма противоречивы (Lee V.S., 2003, Natoli A.K., 2005). Известно, что при беременности суточная потребность в магнии возрастает в 1,5-2 раза, что обусловлено синтетическими запросами организмов матери и

плода (Громова О.А.,2006). Дефицит магния может оказывать влияние на функционирование системы гипоталамус-гипофиз, и опосредованно влиять на содержание прогестерона и эстрогена (Rayssiguier Y. et.al., 2010). В свою очередь, введение экзогенного прогестерона может существенно менять содержание магния и других электролитов в сыворотке крови (Nameed A et.al.2001). Зависимости между уровнем магния в биологических жидкостях и прогестерона у женщин во время беременности до сих пор не изучались.

Триггерные факторы патогенеза варикозного расширения вен у женщин во время беременности до сих пор остаются недостаточно исследованными. На современном этапе отсутствуют рекомендации по первичной профилактике данного заболевания у женщин на ранних сроках беременности. Это послужило основанием для наших исследований.

**Цель исследования:** установить патофизиологические закономерности между гормональным дисбалансом, дефицитом магния и формированием варикозного расширения вен при дисплазии соединительной ткани у беременных женщин.

**Задачи исследования:**

1. Оценить количество висцеральных проявлений и степень тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани у беременных женщин при наличии или отсутствии варикозного расширения вен.

2. Определить содержание магния в различных биологических средах (сыворотка, слюна) и коэффициент распределения магния в организме у беременных женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани в зависимости от наличия или отсутствия варикозного расширения вен.

3. Оценить взаимосвязь между содержанием прогестерона и свободного гидроксипролина у беременных женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани в зависимости от наличия или отсутствия варикозного расширения вен.

4. Исследовать зависимость между уровнем прогестерона, свободного гидроксипролина, магния и состоянием стенок вен по данным ультразвукового дуплексного ангиосканирования вен нижних конечностей у беременных женщин с признаками недифференцированной дисплазии соединительной ткани в зависимости от наличия или отсутствия варикозного расширения вен.

5. Выявить факторы риска развития варикозного расширения вен нижних конечностей у беременных женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Определить патогенетические факторы, обуславливающие нарушение реактивности соединительной ткани и системы венозных сосудов.

**Научная новизна исследования.** Впервые показано, что беременные женщины с варикозным расширением вен нижних конечностей имеют более высокий уровень прогестерона сыворотки крови, низкий уровень слюварного магния и высокий коэффициент распределения магния во II триместре

беременности по сравнению с женщинами без признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани.

Установлено, что повышенный уровень прогестерона в сыворотке крови беременных с варикозным расширением вен нижних конечностей и другими проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани коррелирует с повышением уровня свободного гидроксипролина в крови и индексом эластичности вен. Показано, что женщины с варикозным расширением вен нижних конечностей имеют как большее количество висцеральных проявлений, так и более выраженную степень тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани по сравнению с женщинами без варикозной болезни. Увеличение количества висцеральных проявлений НДСТ коррелирует с повышением коэффициента распределения магния.

Установлено, что женщины с недифференцированной дисплазией соединительной ткани имеют статистически значимо больший индекс эластичности вен по сравнению с беременными женщинами без признаков несостоятельности соединительной ткани. Увеличение индекса эластичности вен коррелирует со снижением уровня слюварного магния и повышением коэффициента распределения магния.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные данные углубляют представления о роли повышении уровня прогестерона и снижения слюварного магния в механизмах развития варикозной болезни, связанных с нарушением баланса распада и синтеза коллагена соединительной ткани. Изменения реактивности соединительной ткани при развитии варикозной болезни на фоне имеющейся недифференцированной соединительной ткани проявляются в нарастании степени тяжести дисплазии, увеличения диаметра вен нижних конечностей, повышении индекса эластичности вен и уровня свободного гидроксипролина. Практическая значимость работы заключается в изучении факторов риска и прогноза развития варикозной болезни у беременных женщин с проявлениями НДСТ на основе анамнестических данных и исследовании показателей прогестерона в сыворотке крови, магния в сыворотке крови и слюне с расчётом коэффициента распределения магния во II триместре беременности.

Определение величины риска развития заболевания позволит индивидуально подойти к разработке комплекса профилактических мероприятий.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты исследования используются в лекционном курсе и при проведении практических занятий на кафедрах патофизиологии и хирургических болезней Южно-Уральского государственного медицинского университета. По материалам исследования разработаны дополнения к методическим рекомендациям по ведению и реабилитации беременных с варикозным расширением вен и лимфостазом нижних конечностей.

**Положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Женщины с варикозным расширением вен нижних конечностей имеют большее количество висцеральных проявлений и более выраженную степень тяжести дисплазии соединительной ткани по сравнению с женщинами с недифференцированной дисплазией соединительной ткани без варикозной болезни.

2. У беременных женщин с варикозным расширением вен нижних конечностей и другими проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани выявляется более высокий уровень прогестерона и свободного гидроксипролина в сыворотке крови, низкий уровень саливарного магния и высокий коэффициент распределения магния в организме по сравнению со здоровыми беременными женщинами во II триместре беременности.

3. Беременные женщины с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани характеризуются высоким индексом эластичности вен по сравнению с женщинами без признаков несостоятельности соединительной ткани. У беременных с варикозной болезнью индекс эластичности и диаметр крупных магистральных вен нижних конечностей больше, чем у здоровых беременных и беременных женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани без варикозной болезни.

4. Риск развития варикозного расширения вен у беременных женщин возрастает в зависимости от возраста, количества беременностей в анамнезе, количества висцеральных проявлений недифференцированной дисплазии соединительной ткани, повышения уровня прогестерона, снижения концентрации саливарного магния, повышения коэффициента распределения магния в организме и увеличения индекса эластичности вен.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены и сообщены на научно-практической конференции «Новые технологии в здравоохранении» (Челябинск, 29 октября 2008г), VI съезде врачей Челябинской области «Актуальные проблемы охраны здоровья населения Челябинской области», посвящённого 75-летию Челябинской области (27-28 ноября 2008г.), Четырнадцатом Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2008).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 8 статей, в том числе 6 в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных результатов научного исследования.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав собственного исследования, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка. Работа иллюстрирована 34 таблицами и 3 рисунками. Библиографический указатель включает 225 источников (175 отечественных и 50 иностранных).

## Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленной целью и задачами продольного нерандомизированного проспективного исследования типа «случай-контроль» было обследовано 75 беременных и 15 здоровых небеременных женщин фертильного возраста.

Основную группу составили 50 беременных женщин II триместра беременности с проявлениями НДСТ. В основной группе были выделены 2 подгруппы. Подгруппу Ia составили 25 беременных женщин с ВРВНК в сочетании с другими проявлениями НДСТ, в подгруппу Ib были включены 25 беременных женщин с маркерами НДСТ без ВРВНК. Группу сравнения составили 25 условно здоровых беременных женщин аналогичного возраста, не имеющих висцеральных проявлений патологии, рассматриваемой в рамках дисплазии НДСТ.

Таблица 1

Общая характеристика исследованных групп

	Возраст	Количество беременностей				Количество родов			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV
Ia подгруппа, n=25	29[28;32]	3	4	8	10	5	10	8	2
Ib подгруппа, n=25	27[25;29]	7	8	5	5	10	3	6	-
II группа, n=25	27[26;30]	12	8	5	-	12	13	-	-

*Критерии включения* в исследование: возраст 18-40 лет, спонтанное наступление беременности, маточная беременность, подтверждённая данными ультразвукового исследования, строго выверенный срок беременности, отсутствие угрозы прерывания беременности на момент обследования. Критерием отбора в основную группу (Ia подгруппу) было наличие ВРВНК.

*Критерии исключения* из исследования: наступление беременности после ЭКО, многоплодная беременность, угроза прерывания беременности, приём гормональных препаратов и препаратов магния, отягощённая наследственность по ВРВ, тяжёлая соматическая патология, отказ женщин от обследования.

Исследования у беременных женщин проводились во II триместре на сроках гестации 15-16, 17-18, 19-20 недель беременности. Небеременных женщин исследовали в лютеиновую фазу менструального цикла только для определения содержания прогестерона в сыворотке крови.

У всех беременных пациенток основной группы и группы сравнения проводился анализ данных акушерско-гинекологического анамнеза.

У женщин основной группы проводилась клиническая оценка фенотипических проявлений недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Учитывались внешние и внутренние (висцеральные) признаки НДСТ. К внешним фенотипическим признакам относили изменения кожи (множественные пигментные пятна, невусы, гиперрастяжимость, наличие стрий), астеническое телосложение, высокорослость, нарушение осанки, деформация позвоночника, плоскостопие, избыточная подвижность суставов, изменения прикуса и др. За висцеральные фенотипические маркёры ДСТ принимались нарушения рефракции, аномалии развития сердечно-сосудистой, гастродуоденальной и мочевыделительной систем, поражения центральной нервной системы, диагностированные в ходе инструментального обследования и на основании консультации хирурга, офтальмолога, терапевта, невролога. Степень выраженности проявлений НДСТ оценивали по специально разработанным картам (по Т.И. Кадуриной, 2009г.), где каждому анализируемому показателю соответствует определённый балл. Клиническая оценка проявлений недифференцированной дисплазии соединительной ткани предполагала антропометрическое обследование и лабораторные исследования (клинические, биохимические, иммунологические). При полном клинико-инструментальном и лабораторном обследовании за I степень тяжести принималась сумма до 20 баллов; за умеренную степень тяжести-21-39 балл; за выраженную- 40 и более баллов.

Антропометрическое обследование проводилось при объективном осмотре (на момент взятия на учёт по беременности), при котором масса тела определялась с помощью медицинских весов с точностью до 0,05 кг; длина тела измерялась ростомером с точностью до 0.01м; оценивалась пропорциональность длины и массы тела. Для оценки дефицита массы тела использовался ростовесовой индекс Варги:  $ИВ = \frac{\text{масса тела в граммах}}{\text{рост см}^2} - \frac{\text{возраст}}{100}$

Величина ИВ, равная 1,7 и более расценивалась как отсутствие дефицита массы тела; 1,5-1,7 - как умеренное снижение массы тела; 1,5 и ниже как выраженный дефицит массы тела.

Общеклиническое исследование крови производили на гематологическом анализаторе «Abacus-junior» (США) и «МЕК-6400» (Япония). Фиксация мазков производилась по Май-Грюнвальду, окраска по методу Романовского. Морфологическое исследование форменных элементов крови производилось на микроскопе «Leica DM 2000» (Германия).

Оценку гемостаза осуществляли по тестам: фибриноген по Клауссу; активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ) и активированное время рекальцификации плазмы (АВР); тромбиновое время, протромбиновый индекс (ПТИ) на полуавтоматическом коагулометре «CL Analyser» (США).

Определение иммуноглобулинов классов А, М, G выполняли на иммуноферментном анализаторе (фотометре) «Bio-Rad 680» (США) реактивами фирмы «Хема». Окислительно-восстановительную активность нейтрофилов

определяли с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест).

Содержание прогестерона и хориального гонадотропина (ХГЧ) определяли методом твёрдофазного гетерогенного ИФА на иммуноферментном анализаторе «Bio-Rad 680» (США) реактивами «Алкор-Био».

Исследование продуктов деградации коллагена (свободного гидроксипролина) в сыворотке крови производили по методу П.Н. Шараева и М.А. Осадчук. Содержание свободного гидроксипролина рассчитывалось по калибровочному графику (мкмоль/л) после фотометрирования исследованных образцов на спектрофотометре «СФ-104» (Россия) при длине волны 540 нм.

Определение магния в сыворотке крови и слюне производили колориметрическим методом на анализаторе «Analette» (США) реактивами фирмы «Olveh». В изучаемых биологических средах (сыворотка, слюна) определяли концентрацию общего магния, выраженную в ммоль/л и рассчитывали коэффициент распределения (КР) для данного катиона по формуле:  $КР = \text{общий Mg сыворотки крови} / \text{общий Mg слюны (ммоль/л)}$ .

При снижении в 2 раза и более от уровня нормы концентрации слюварного магния и повышении в 2 раза и более от уровня нормы КР для данного катиона диагностировали скрытые магниedefицитные состояния

*Контроль качества* гематологических, биохимических, иммуноферментных исследований осуществляли контрольными образцами фирмы «BIO-RAD» (США) трёх уровней (L,N,H)

Ультразвуковое исследование вен нижних конечностей в режиме реального времени (В-режиме) производили на аппарате «Vivid I» (США), используя линейный датчик с частотой ультразвука 5-7 МГц. Для оценки тонуса общей бедренной вены определяли ее диаметр под паховой складкой в положении обследуемого лежа и в состоянии свободного ортостаза. Степень изменения просвета общей бедренной вены, измеряемая отношением ее диаметров в перечисленных позициях, представляет индекс эластичности. За нормальную величину принимается значение ИЭ не превышающее  $1,37 \pm 0,09$ , что соответствует физиологической эластичности венозной стенки. Производили измерение диаметра большой подкожной вены (БПВ) спереди и малой подкожной вены (МПВ) сзади в положении пациента стоя на всём протяжении сосудов. Данные обследования вносили в специальный протокол.

Статистический анализ данных результатов исследования выполнен с применением пакета прикладных программ программы Statistica for Windows 6,0. Описание выборки проводили с помощью подсчёта медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75 перцентилей ( $C_{25}$  и  $C_{75}$ ). Результаты исследования представлены в таблицах в виде Me (25;75). Множественное сравнение величин в более чем 2-х независимых группах осуществляли с помощью непараметрического критерия Kruskal-Wallis test (критерий Краскела-Уоллиса). Для определения достоверности различий между

показателями в 2-х независимых группах использовали Mann-Whitney test (Манна-Уитни тест). Для определения корреляционной связи между показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R). Различия между показателями при проверке статистических гипотез в данном исследовании считали достоверными при значении  $p < 0,05$ .

Для формирования группы риска использовали многомерный статистический анализ (Е.Н. Шиган, 1986). Было выделено 2 группы - группа женщин с ВРВНК и контрольная группа (с НДСТ без ВРВНК). Используя метод контрольных групп, были рассчитаны коэффициенты отношения правдоподобия (K) по нескольким факторам риска, имеющих значение в патогенезе ВРВ. Минимальный риск находили перемножением всех наименьших значений достоверных различий K, максимальный риск - перемножением наибольших K.

Материал получен, обработан и проанализирован лично автором.

## Результаты исследования и их обсуждение

### Характеристика проявлений ДСТ

Проведённое исследование выявило у пациенток основной группы множество признаков, характерных для лиц с дисплазией соединительной ткани.

Таблица 2

Данные антропометрического обследования беременных женщин Me(25;75)

Группы	Рост	Вес	Индекс Варги
Ia подгруппа	170[169;171]*	56[54;58]*	1,6[1,6;1,7]*
Iб подгруппа	167[165;169]**	55[52;59]*	1,7[1,6;1,8]*
II группа	161[160;165]	58[57;60]	1,9[1,9;2,0]

Примечание. -\* $p < 0,05$ , \*\* $p \leq 0,05$

Беременные женщины с проявлениями НДСТ отличались от пациенток группы сравнения более высоким ростом. Телосложение женщин данной группы было астеническим, так как они отличались умеренным, а часть из них выраженным дефицитом массы тела (индекс Варги 1,6 и 1,7 соответственно) по сравнению с таковыми показателями у женщин группы сравнения (индекс Варги 1,9 и более).

При анализе внешних фенотипических признаков у женщин с проявлениями НДСТ (Ia и Iб подгрупп) было выявлено астеническое телосложение у 9(36%) и 10(40%) соответственно, сколиотическая осанка 5(20%) и 4(15%), плоскостопие 7(30%) и 8(35%), избыточная подвижность суставов 2 (8%) и 1 (4%).

Поражения кожи характеризовались наличием очагов гипер- и депигментации 4 (15%) и 5 (20%), множественных невусов 4 (15%), стрий 15(60%) и 10 (40%). Из других признаков встречались изменения со стороны зубов (неправильный прикус) у 4(15%) и 3 (12%) женщин, гипо и гипертелоризм глаз у 1 (4%) и 2 (8%).

У 7(30%) беременных женщин с ВРВ было зарегистрировано по 3 висцеральных фенотипических маркёра НДСТ, 14 (57%) имели по два маркёра, 4(15%) женщин-по одному висцеральному маркёру. В подгруппе женщин с проявлениями НДСТ без ВРВ 10 (40%) женщин имели по два висцеральных признака НДСТ и 15 (60%) по одному признаку. Различия между подгруппами по количеству висцеральных признаков ДСТ были статистически значимыми ( $\chi^2=9,5$ ,  $p 0,002$ ).

В результате проведённого лабораторного обследования, беременные женщины с проявлениями НДСТ были склонны к развитию анемического синдрома. В группе беременных с проявлениями НДСТ наблюдалась тенденция к снижению содержания гемоглобина (Hb). У 25% женщин концентрация Hb была ниже 103-107 г/л на сроке 15-16 недель, 104-105 г/л на сроке 17-18 недель, 102-107 г/л на сроке 19-20 недель. Концентрация Hb у женщин группы сравнения была сравнительно выше. 50% женщин этой группы имели гемоглобин в пределах 112-127 г/л на сроке 15-16 недель, 113-128 г/л на сроке 17-18 недель, 109-122 г/л на сроке 19-20 недель. На сроке 15-16 и 17-18 недель выявлены различия по показателям среднего объёма эритроцитов (MCV), среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH) и показателю ширины распределения эритроцитов по объёму (RDW). 25% женщин с проявлениями НДСТ имели показатели MCV ниже 82 fl, а MCH ниже 27 pg. В мазке крови это соответствовало анизо-, пойкилоцитозу и гипохромии эритроцитов.

Статистически значимых различий в группах по параметрам лейкоцитарного звена выявлено не было. У 25% обследуемых женщин общее количество лейкоцитов во всех группах было более  $8 \times 10^9$ /л. Имелась тенденция к увеличению общего количества лейкоцитов со сроком беременности.

У беременных женщин с проявлениями НДСТ по сравнению с женщинами группы сравнения во все исследуемые сроки II триместра беременности выявлено более низкое количество тромбоцитов (PLT) в крови. У 25% женщин показатели тромбоцитов были ниже  $150 \times 10^9$ , у 12%-ниже  $140 \times 10^9$ . У 50% женщин с проявлениями НДСТ показатели тромбоцитов не превышали  $190 \times 10^9$ , в то время как у женщин группы сравнения они были в пределах  $187-255 \times 10^9$ , у 25% превышали  $255 \times 10^9$ .

Для женщин с проявлениями НДСТ была характерна тенденция к укорочению АВР по сравнению с группой сравнения, более выраженная в подгруппе беременных с ВРВ. У них был выявлен статистически значимо более высокий уровень фибриногена по сравнению со здоровыми женщинами группы сравнения. Так, фибриноген увеличился в Ia подгруппе с  $3,8[3,4;4,0]$  г/л на

сроке 15-16 недель до 3,9[3,6-4,2] г/л сроке 19-20 недель; в Ib подгруппе-с 3,5[3,2;3,7] г/л до 3,7[3,4;3,9]; а в группе сравнения-с 3,4[3,0; 3,6] г/л до 3,5[3,0;3,6] г/л соответственно. Следует отметить, что беременные с ВРВ отличались более высоким содержанием фибриногена по сравнению с беременными группы сравнения ( $p_1$  0,008; 0,01; 0,004) и беременными с проявлениями НДСТ без ВБ на всех исследованных сроках беременности ( $p_1$  0,014; 0,034; 0,04).

В ходе проведенного иммунологического исследования у женщин с проявлениями НДСТ были выявлены пониженные показатели спонтанного и индуцированного НСТ-теста и Ig A.

В результате проведенного полного клинико-инструментального и лабораторного обследования следует, что беременные женщины с ВРВ отличались от беременных с проявлениями НДСТ без ВБ более выраженными проявлениями ДСТ. Так, в Ia подгруппе общее количество баллов равнялось 364, в Ib подгруппе сумма баллов была равна 267.

Таблица 3

Распределение беременных женщин с проявлениями НДСТ по количеству баллов и тяжести ДСТ (по Т.И.Кадуриной, 2009г)

	Степень тяжести ДСТ	Количество баллов	Количество человек	
			абс	%
Ia подгруппа	Выраженная	40-41	2	8
	Умеренная	21-25	10	40
	Легкая	6-10	13	52
Ib подгруппа	Умеренная	20-27	6	24
	Легкая	6-10	19	76

Таблица 4

Концентрация магния в сыворотке крови у беременных в группах Me(25;75)

	Магний (сыв-ка) мМ/л		
	15-16 нед	17-18 нед	19-20 нед
Ia подгруппа, n=25	0,93[0,79;0,99]	0,92[0,82;0,99]	0,85[0,78;0,96]
Ib подгруппа, n=25	0,86[0,8;0,99]	0,85[0,8;0,98]	0,84[0,79;0,95]
II группа, n=25	0,84[0,8;0,92]	0,820,79;0,95]	0,81[0,77;0,9]

Примечание. -  $p > 0,05$

Концентрация общего магния в сыворотке крови у обследованных беременных с проявлениями НДСТ и здоровых беременных не имела достоверных различий, что подтверждает данные литературы (Талибов О.Б., 2006, Rocha V.S., 2012). Но имелись различия по содержанию магния в слюне.

Таблица 5

Концентрация магния в слюне у беременных в исследуемых группах Me(25;75)

	Магний (слюна) ммоль/л		
	15-16 нед	17-18 нед	19-20 нед
Ia подгруппа, n=25	0,26[0,24;0,27]*	0,24[0,23;0,25]*	0,23[0,22;0,24]*
Iб подгруппа, n=25	0,25[0,24;0,26]*	0,23[0,22;0,25]*	0,22[0,20;0,25]*
II группа, n=25	0,45[0,4;0,5]	0,44[0,43;0,5]	0,43[0,42;0,49]

Примечание. \*-  $p < 0,05$  при сравнении со II группой

Как видно из представленных данных (см. табл. 5), концентрация магния в слюне у женщин основной группы была ниже таковой в группе сравнения.

В слюне зарегистрировано статистически значимое снижение общего магния у беременных с ВРВ в 1,7-1,9 раза на сроке 15-16 недель беременности, в 1,8-2,0 раза на сроке 17-18 недель, в 1,95-2 раза на сроке 19-20 недель по сравнению с нормативами группы здоровых беременных. У беременных с проявлениями НДСТ без ВБ содержание общего магния в слюне было снижено по сравнению с группой сравнения в 1,7-1,92 раза на сроке 15-16 недель беременности, в 1,95-2 раза на сроке 17-18 недель, в 1,96-2,1 раза на сроке 19-20 недель. Для определения дефицита магния у обследуемых беременных женщин произвели расчёт коэффициента распределения (КР) магния в организме по формуле:  

$$КР = \frac{\text{общий Mg сыворотки крови ( ммоль/л)}}{\text{общий Mg слюны ( ммоль/л)}}$$

Таблица 6

Коэффициент распределения магния у беременных в группах Me(25;75)

	Коэффициент распределения магния (КР)		
	15-16 нед	17-18 нед	19-20 нед
Ia подгруппа, n=25	3,60 [3,3;3,8] **	3,68 [3,4;3,8]**	3,7 [3,4;4,0]**
Iб подгруппа, n=25	3,44 [3,2;3,6]*	3,48 [3,3;3,6]*	3,56[3,5;3,8]*
II группа, n=25	1,8 [1,7;1,9]	1,75 [1,6;1,9]*	1,74 [1,75;1,83]

Примечание. - \* $p < 0,05$  при сравнении со II группой; \*\*  $p < 0,05$  при сравнении с Iб подгруппой.

Значения КР у беременных с НДСТ были выше по сравнению с группой сравнения. Беременные с ВРВ отличались более высоким КР магния по сравнению с пациентками с проявлениями НДСТ без ВБ

Таким образом, достоверное снижение уровня саливарного магния у беременных основной группы по сравнению с группой сравнения на фоне его нормальных показателей в периферической крови свидетельствует о скрытом дефиците данного катиона у лиц с проявлениями НДСТ. Достоверное увеличение рассчитанных КР магния у беременных с проявлениями НДСТ свидетельствует о снижении проницаемости гематосаливарного барьера в отношении магния для данной категории пациентов по сравнению со здоровыми беременными, более выраженное у беременных с ВРВ. Проявлялась положительная корреляционная связь между количеством висцеральных проявлений НДСТ и коэффициентом распределения магния ( $R=0,56$ ,  $p=0,023$ ).

Таблица 7

Уровень прогестерона у беременных в исследуемых группах Me(25;75)

	Прогестерон (нмоль/л)		
	15-16 нед	17-18 нед	19-20 нед
Ia, n=25	190,0[187,5;193]**	193,5[185,2;202,3]*	202,7[200,8;224,6]
Iб, n=25	173,7[167,2;181,4]*	191,8[180,6;203,7]*	204,3[198,7;222,8]
II гр-па, n=25	151,5[138,4;159,8]	170,2[165,4;190,2]	198,4[187,6;220,3]

Примечание.- \* $p < 0,05$  при сравнении со II группой, \*\*  $p < 0,05$  при сравнении с Iб подгруппой.

Уровни прогестерона у беременных женщин на всех исследуемых сроках беременности были достоверно выше концентрации прогестерона у небеременных женщин в лютеиновую фазу менструального цикла (51,8[44,9; 77,7] ( $p < 0,01$ )) и повышались с увеличением срока гестации.

На сроке беременности 15-16, 17-18 недель уровень прогестерона превышал референсные значения, характерные для данного срока беременности вне зависимости от наличия или отсутствия признаков ДСТ. На этих же сроках выявлены достоверные различия по содержанию прогестерона в группах. Концентрация прогестерона у женщин с ВРВ и другими проявлениями НДСТ была достоверно выше уровня гормона группы сравнения.

На сроке 19-20 недель беременности уровень прогестерона в исследуемых группах увеличивался со сроком беременности примерно одинаково, различий в группах по этому показателю выявлено не было.

Таким образом, уровень прогестерона у беременных женщин во II триместре беременности превышал уровень гормона небеременных в 3-4 раза и повышался со сроком гестации. На сроке 15-16, 17-18 недель концентрация прогестерона у женщин с ВРВ и другими проявлениями НДСТ была достоверно выше уровня гормона беременных женщин группы сравнения.

Таблица 8

Содержание свободного гидроксипролина у беременных в исследуемых группах Me(25;75)

	Свободный гидроксипролин (мкмоль/л)		
	15-16 нед	17-18 нед	19-20 нед
Ia под-па, n=25	35,4[33,7;44,3]**	35,6[33,8;39,3]**	35,8[34,0;36,7]*
Iб под-па, n=25	35,1[34,1;38,4]*	35,2[33,8;36,6]*	34,3[32,1;35,3]
II группа, n=25	32,9[29,4;34,5]	32,8[29,3;34,8]	32,8[29,6;34,9]

Примечание.- \*p < 0,05 при сравнении со II группой, \*\* p < 0,05 при сравнении с Iб подгруппой.

У беременных женщин с проявлениями НДСТ выявлен статистически значимо более высокий уровень свободного гидроксипролина в сыворотке крови по сравнению с группой сравнения. Основные различия наблюдались на сроке 15-16 и 17-18 недель беременности.

Беременные с варикозной болезнью отличались более высоким уровнем свободного гидроксипролина на всех исследованных сроках. Проявлялась положительная корреляционная связь между уровнем прогестерона и уровнем свободного гидроксипролина на сроке 15-16 (R=0,35, p=0,02) и 17-18 недель беременности (R=0,32, p=0,04).

Таблица 9

Результаты ультразвукового исследования вен нижних конечностей у беременных женщин Me(25;75)

Диаметр больших подкожных вен (мм) на остиальном клапане							
	Ia n=25	Iб n=25	II группа n=25	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>	p <sub>3</sub>	p <sub>4</sub>
Справа	8,1[7,9;8,6]	5,2[4,8;5,5]	4,8[4,7;5,0]	0,0012	0,6	0,011	0,0018
Слева	7,0[6,7;8,5]	5,0[4,9;5,3]	5,0[4,8;5,2]	0,001	0,15	0,014	0,0022
Диаметр больших подкожных вен (мм) в верхней трети ствола							
Справа	5,5[5,0;6,0]	3,8[3,1;4,0]	3,7[3,0;3,9]	0,001	0,6	0,01	0,003

Слева	4,7[4,5;5,7]	3,6[3,0;3,8]	3,5[3,0;3,7]	0,014	0,11	0,02	0,0025
Диаметр малых подкожных вен (мм) в подколенной ямке							
Справа	4,8[4,4;5,4]	3,4[3,1;3,5]	3,1[2,9;3,4]	0,012	0,95	0,01	0,001
Слева	4,0[3,5;5,0]	3,5[3,1;3,6]	3,0[2,8;3,3]	0,001	0,26	0,02	0,005
Индекс эластичности вен нижних конечностей (ИЭ)							
Справа	2,3[2,0;2,5]	1,6[1,5;1,8]	1,4[1,36;1,45]	0,002	0,015	0,03	0,001
Слева	2,4[1,9;2,6]	1,7[1,6;1,87]	1,36[1,3;1,4]	0,002	0,01	0,02	0,0015

Примечание.  $p_1$ - при сравнении подгруппы Ia и II группы;  $p_2$ -при сравнении подгруппы Ib и II группы;  $p_3$ -при сравнении подгрупп Ia и Ib и II группы  $p_4$ -при сравнении подгрупп Ia и Ib и II группы

Результаты цветного дуплексного ангиосканирования вен нижних конечностей показали следующее. Для женщин с ВРВНК было характерно увеличение диаметров БПВ на уровне остиального клапана, в верхней трети ствола, МПВ в области подколенной ямки по сравнению с группой сравнения. Для них был характерен статистически значимо больший диаметр исследованных вен и по сравнению с беременными с проявлениями НДСТ без ВБ. Для беременных женщин с проявлениями НДСТ был характерен статистически значимо больший индекс эластичности (ИЭ) сосудистой стенки вен по сравнению с группой сравнения. У беременных с ВБ индекс эластичности вен был выше.

Для анализа зависимостей признаков выполнен расчёт коэффициента корреляции Спирмена (R). У беременных женщин с проявлениями НДСТ проявлялась положительная корреляционная связь между уровнем прогестерона и индексом эластичности вен ( $R=0,45$ ,  $p=0,01$ ;  $R=0,36$ ,  $p=0,03$ ), отрицательная корреляционная связь между уровнем магния в слюне и индексом эластичности вен ( $R= -0,30$ ,  $p=0,02$ ;  $R= -0,31$ ,  $p=0,02$ ), и положительная корреляционная связь между коэффициентом распределения магния и индексом эластичности вен ( $R=0,47$ ,  $p=0,001$ ;  $R=0,4$ ,  $p=0,01$ ) на сроке 15-16 недель.

### **Определение оценки величины риска ВРВНК**

При исследовании беременных женщин с НДСТ были изучены некоторые медико-биологические и социальные факторы, увеличивающие риск развития ВРВ. Было выделено 2 группы- группа женщин с ВРВНК и контрольная группа (с НДСТ без ВРВНК). Используя метод контрольных групп, были рассчитаны коэффициенты отношения правдоподобия по следующим факторам.

Таблица 10

Определение коэффициентов отношения правдоподобия по факторам «возраст женщины», «порядковый номер беременности» и количество висцеральных признаков ДСТ

Фактор		Группы				K= P <sub>и</sub> / P <sub>к</sub>	$\chi^2$
		ВРВНК (и)		Контроль(к)			
		n	P <sub>и</sub>	n	P <sub>к</sub>		
Возраст	До 20 лет	0	0	0	0,04	0	5,83 (p 0,01)
	21-25 лет	3	0,12	10	0,4	0,3	
	26-30 лет	12	0,48	9	0,36	1,3	
	31-35 лет	8	0,32	5	0,2	1,6	
	36 и >	2	0,08	0	0	-	
	Итого	25	1,0	25	1,0		
Порядковый номер беременности	1	3	0,12	7	0,28	0,4	4,6 (p 0,03)
	2	4	0,16	8	0,32	0,5	
	3	8	0,32	5	0,2	1,6	
	4	10	0,4	5	0,2	2	
	Итого	25	1,0	25	1,0		
Кол-во признаков ДСТ	1	3	0,12	11	0,6	0,2	9,5 (p 0,002)
	2	14	0,56	10	0,4	1,4	
	3	8	0,32	4	0,16	2,0	
	Итого	25	1,0	25	1,0		

Примечание. K-коэффициент правдоподобия,  $\chi^2$ -критерий хи-квадрат, p-уровень значимости различий при сравнении групп

Таблица 11

Определение коэффициентов отношения правдоподобия по данным лабораторных и инструментальных исследований

Фактор		Группы				K= P <sub>и</sub> / P <sub>к</sub>	$\chi^2$
		ВРВНК (и)		Контроль (к)			
		n	P <sub>и</sub>	n	P <sub>к</sub>		
Прогестерон	Увеличение на 25%*	7	0,3	5	0,26	1,15	5,02 / p 0,02
	Увеличение на 20%*	10	0,5	8	0,4	1,25	
	Увеличение на 10%*	4	0,2	6	0,3	0,7	
	Итого	21	1,0	19	1,0		
Магний	Снижение в 2 и > раза*	8	0,4	8	0,4	1,0	1,3 /

слюны	Снижение в 1,9 и <раза*	7	0,3	8	0,4	0,7	p 0,3
	Снижение в 1,7 и <раза*	5	0,2	6	0,3	0,7	
	Итого	20	1,0	22	1,0		
Коэффициент распределения магния	Увеличение в 2 и > раза*	10	0,5	7	0,3	1,7	4,34 / p 0,025
	Увелич-е в 1,9 и > раза*	7	0,35	8	0,4	0,92	
	Увелич-е в 1,8 и > раза*	3	0,15	6	0,28	0,5	
	Итого	20	1,0	21	1,0		
Гидроксипролин	Увеличение на 25%*	10	0,5	6	0,3	1,6	4,62 / p 0,03
	Увеличение на 20%*	8	0,4	6	0,3	1,3	
	Увеличение на 10%*	4	0,2	7	0,4	0,5	
	Итого	22	1,0	19	1,0		
ИЭ	Увеличение на 50%**	15	0,6	6	0,3	2,0	6,6 / p 0,01
	Увеличение на 25%**	7	0,28	5	0,2	1,4	
	Увеличение на 15%**	3	0,12	8	0,4	0,3	
	Итого	25	1,0	19	1,0		

Примечание. К-коэффициент правдоподобия,  $\chi^2$ -критерий хи-квадрат, ИЭ-индекс эластичности; p-уровень значимости различий при сравнении групп; \* - по сравнению со здоровыми беременными ; \*\* - по сравнению с величиной, соответствующей физиологической эластичности вен

На основании результатов наших исследований для оценки величины риска развития ВРВНК была рассчитана «шкала риска»:

- минимальный риск 0,002-1,75 (благоприятный прогноз);
- средний риск 1,76-5,6 (группа внимания);
- максимальный риск 5,7-43,5 (неблагоприятный прогноз).

Результаты нашего исследования, объединённые с литературными данными, позволили представить роль изученных нами факторов в схеме патогенеза ВРВНК (см. рис. 1). Во II триместре беременности у женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани наблюдается внутритканевой дефицит магния, приводящий к снижению синтеза коллагена, развитию эндотелиальной дисфункции и снижению прочности соединительного каркаса стенки вен. Повышенный уровень прогестерона на этом же сроке у данной категории пациенток вызывает деградацию коллагеновых и эластиновых волокон, а также способствует снижению венозного тонуса путём угнетающего влияния на гипоталамус-гипофизарную связь. Дисфункция эндотелия, снижение прочности и эластичности венозной стенки на фоне гемодинамических изменений во второй половине беременности приводят к развитию флебопатии беременных, а, при наличии факторов риска, к варикозному расширению вен.

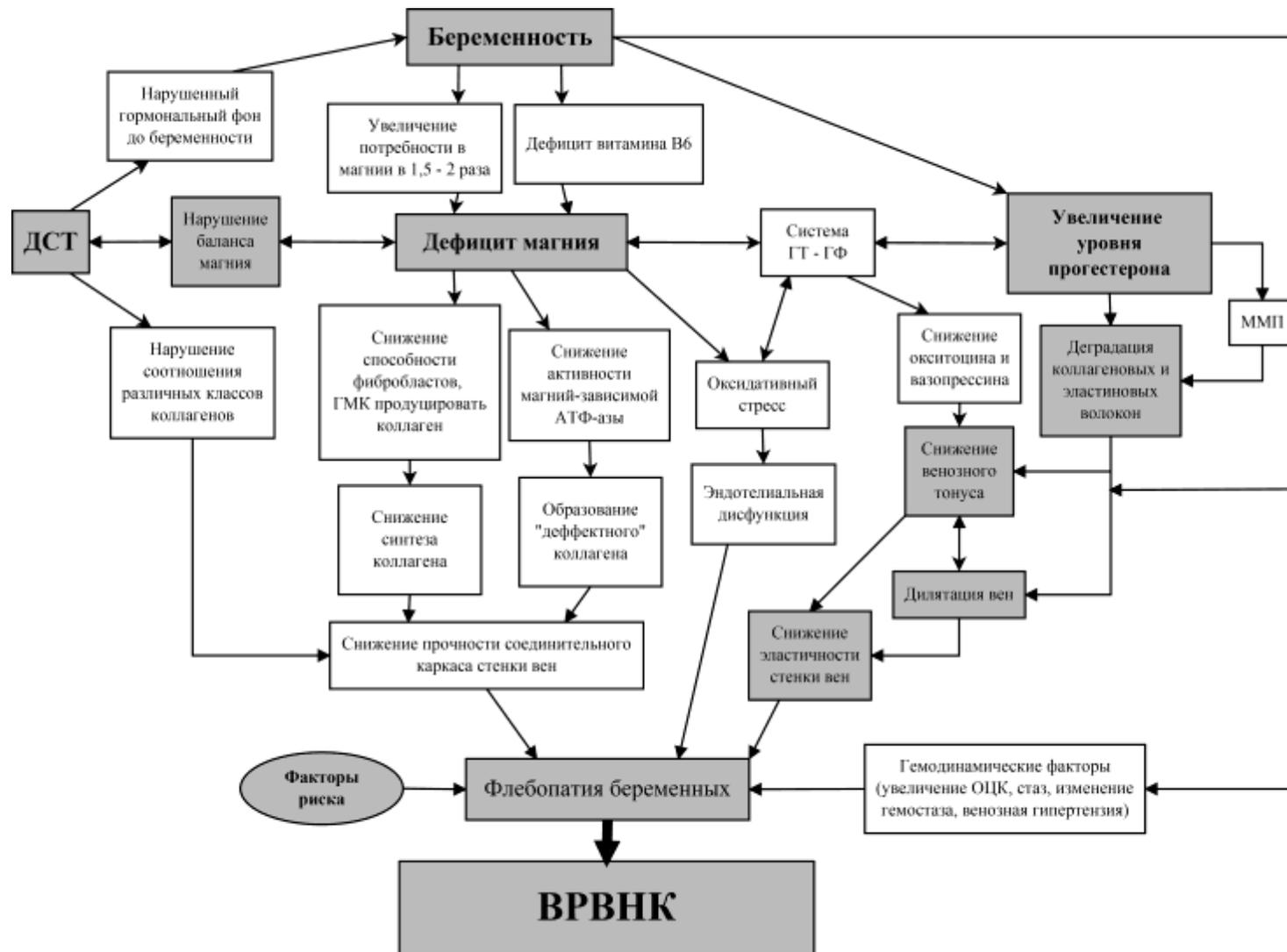


Рис.1 Схема патогенеза ВРВНК у женщин с ДСТ во время беременности

## ВЫВОДЫ

1. У женщин с варикозным расширением вен нижних конечностей выявлено большее количество висцеральных проявлений и более выраженная степень тяжести дисплазии соединительной ткани по сравнению с женщинами с недифференцированной дисплазией соединительной ткани без варикозной болезни

2. Уровень слюварного магния у беременных женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани был ниже, а коэффициент распределения магния в организме выше, чем у здоровых беременных. Беременные с варикозной болезнью отличались более высоким коэффициентом распределения магния. Проявлялась положительная корреляционная связь между количеством висцеральных проявлений НДСТ и коэффициентом распределения магния.

3. У беременных женщин с варикозным расширением вен нижних конечностей и другими проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани выявлен больший уровень прогестерона и свободного гидроксипролина по сравнению со здоровыми беременными. Беременные с варикозной болезнью отличались более высоким уровнем свободного гидроксипролина. Проявлялась положительная корреляционная связь между уровнем прогестерона и уровнем свободного гидроксипролина.

4. Индекс эластичности вен нижних конечностей у беременных женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани выше, чем у женщин без признаков несостоятельности соединительной ткани. У беременных с варикозной болезнью индекс эластичности и диаметр крупных магистральных вен нижних конечностей больше, чем у здоровых беременных и женщин с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани без варикозной болезни. Проявлялась положительная корреляционная связь между уровнем прогестерона, коэффициентом распределения магния и индексом эластичности вен. Проявлялась отрицательная корреляционная связь между уровнем слюварного магния и индексом эластичности вен.

5. Риск развития варикозного расширения вен у беременных женщин возрастает в зависимости от возраста, количества беременностей в анамнезе, количества висцеральных проявлений недифференцированной дисплазии соединительной ткани, повышения уровня прогестерона, снижения концентрации слюварного магния, повышения коэффициента распределения магния в организме и увеличения индекса эластичности вен.

«Шкала риска» развития ВРВНК:

- минимальный риск-0,002-1,75 (благоприятный прогноз);
- средний риск-1,76-5,6 (группа внимания);
- максимальный риск-5,7-43,5 (неблагоприятный прогноз).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У женщин с проявлениями НДСТ рекомендовано во II триместре беременности исследование показателей прогестерона в сыворотке крови, магния в сыворотке крови и слюне с расчётом коэффициента распределения магния. При анализе гормонального статуса необходимо учитывать референсные значения концентрации прогестерона, характерные для данного срока беременности.
2. Оценку риска развития проявлений ХВН необходимо производить с учётом наличия висцеральных проявлений и магниевых дефицита.
3. Беременным женщинам старше 26 лет, с 3 и более беременностями в анамнезе и наличием более 2-х висцеральных проявлений ДСТ в отсутствие клинических признаков хронической лимфопатической недостаточности рекомендована консультация сосудистого хирурга с проведением стандартного протокола УЗДГ вен нижних конечностей, определение необходимости проведения профилактических и лечебных мероприятий.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Алёхин, Д.И. Уровень прогестерона у беременных как фактор развития варикозной болезни / Д.И. Алёхин, Л.А. Николенко, Е.В. Персева, Ж.А. Голощапова // Проблемы репродукции. – 2008. – № 6. – С. 87-90.
2. Алёхин, Д.И. Дисплазия соединительной ткани и уровень прогестерона в сыворотке крови у беременных во II триместре / Д.И. Алёхин, Л.А. Николенко, Ж.А. Голощапова, Персева Е.В. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2008. – Т 9, № 6. – С. 253.
3. Алёхин, Д.И. Дисплазия соединительной ткани и уровень прогестерона в сыворотке крови у беременных во II триместре / Д.И. Алёхин, Л.А. Николенко, Ж.А. Голощапова, Е.В. Персева // Новые технологии в здравоохранении: сборник научных трудов. – Челябинск, 2008. – С. 225-226.
4. Алёхин, Д.И. Уровень прогестерона и варикозная болезнь у беременных / Актуальные проблемы охраны здоровья населения Челябинской области: материалы VI съезда врачей Челябинской области, посвящённого 75-летию Челябинской области. – Челябинск, 2008. – С. 94.
5. Николенко, Л.А. Варикозная болезнь у беременных как следствие изменения гормонального фона у пациенток с проявлениями недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Л.А. Николенко, Д.И. Алёхин, Е.В. Персева, Ж.А. Голощапова // Анналы хирургии. 2010. № 2. С. 60-63.
6. Николенко, Л.А. Особенности показателей периферической крови и иммунного статуса у женщин во время беременности (обзор литературы) /

Л.А. Николенко, Е.С. Головнева, Д.И. Алёхин, Ж.А. Голощапова // Проблемы репродукции. 2011. № 1. С. 106-109.

7. Николенко, Л.А. Ещё раз про магний (обзор литературы) / Л.А. Николенко, Е.С. Головнева, Д.И. Алёхин, Ж.А. Голощапова // Проблемы репродукции. 2011. № 4. С. 23-25.

8. Николенко, Л.А. Уровень прогестерона и магния у беременных женщин с проявлениями недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Л.А. Николенко, Е.С. Головнева, Д.И. Алёхин, Ж.А. Голощапова // Вестник уральской медицинской академической науки. 2012. № 2 (39). С. 104-105.

### Список сокращений и аббревиатур

ВБ	варикозная болезнь
ВРВНК	варикозное расширение вен нижних конечностей
ДСТ	дисплазия соединительной ткани
НДСТ	недифференцированная дисплазия соединительной ткани
ПМК	пролапс митрального клапана
СГОП	свободный гидроксипролин
БПВ	большая подкожная вена
ОБВ	общая бедренная вена
МПВ	малая подкожная вена
ИЭ	индекс эластичности
АЧТВ	активированное частичное тромбиновое время
Прог	прогестерон
PLT	тромбоциты
HGB	гемоглобин
Mg	магний
KP	коэффициент распределения магния в организме
K	коэффициент отношения правдоподобия

*На правах рукописи*

НИКОЛЕНКО  
Людмила Александровна

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ  
РАЗВИТИЯ ВАРИКОЗНОГО РАСШИРЕНИЯ ВЕН ПРИ  
ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

14.03.03-патологическая физиология

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

Екатеринбург-2013

Подготовлено к печати в издательстве «Южно-Уральский государственный  
медицинский университет». Лицензия № 01906. Отпечатано в ПЦ  
«ПРИНТМЕД». Подписано к печати 14.05.12. Объем 1 п. л. Формат 64×84.  
Гарнитура «Times New Roman суг». Бумага для офисной техники, 80 мг,м<sup>2</sup>.  
Тираж 100 экз.