Министерство здравоохранения Российской Федерации
Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Первый Московский государственный медицинский
университет им. И.М. Сеченова

А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых,
М.В. Немцова, И.И. Быков

ГЕНЕТИКА В ПРАКТИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА

практическая медицина

А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых,
М.В. Немцова, И.И. Быков

ГЕНЕТИКА В ПРАКТИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА

практическая медицина
Москва • 2017

УДК 616.33-006.6-575.1
ББК 54.132: 55.6:52.5
Ч-49

Авторский коллектив

Александр Федорович Черноусов — доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор клиники факультетской хирургии им. Н.Н. Бурденко, заведующий кафедрой факультетской хирургии № 1 лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ.

Татьяна Витальевна Хоробрых — доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, профессор кафедры факультетской хирургии № 1 лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ.

Марина Вячеславовна Немцова — доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией медицинской генетики Института молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ.

Игорь Игоревич Быков — кандидат медицинских наук, врач-онколог онкологического отделения хирургических методов лечения опухолей головы и шеи, молочных желез, кожи и мягких тканей университетской клинической больницы № 1 ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ.

Черноусов А.Ф.

Ч-49 Генетика в практике хирургического лечения рака желудка / А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых, М.В. Немцова, И.И. Быков. — М.: Практическая медицина, 2017. — 128 с.

IISBN 978-5-98811-439-0

Монография посвящена раку желудка и современным возможностям использования молекулярных маркеров для диагностики, прогноза и определения тактики ведения пациентов с этим заболеванием. В первой части книги (главы 1, 2 и 3) описываются современные теоретические основы молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза желудка, некоторые аспекты генетического консультирования больных раком желудка, а также определенные особенности, связанные с ведением пациентов с наследственным диффузным раком желудка. Практическая, вторая, часть книги (главы 4, 5 и 6) обобщает уникальный собственный опыт разработки панели генетических маркеров диагностики, прогноза и определения тактики ведения больных спорадическим раком желудка.

Для онкологов и хирургов, а также врачей всех практических специальностей, которым в повседневной работе приходится сталкиваться с онкологическими больными.

УДК 616.33-006.6-575.1
ББК 54.132: 55.6:52.5

ISBN 978-5-98811-439-0

© Коллектив авторов, 2016
© практическая медицина, оформление, 2017

Оглавление

Список сокращений 6

Предисловие 7

1 Современный взгляд на патогенез рака желудка 9
(*Черноусов А.Ф., Немцова М.В., Хоробрых В.В., Быков И.И., Вачнадзе Д.И.*)

1.1. Эпидемиология рака желудка 9
1.2. Рак желудка как мультифакториальное заболевание 10
1.3. Роль бактерий и вирусов в патогенезе рака желудка 12
1.4. Предраковые повреждения слизистой оболочки желудка 17
1.5. Стволовые клетки и рак желудка 19
1.6. Спорадический рак желудка 20
1.7. Полногеномные исследования при раке желудка 24

2 Генетическое консультирование при наследственных онкологических синдромах 27
(*Немцова М.В., Быков И.И.*)

2.1. Рак желудка, связанный с наследственными синдромами 30
2.2. Практические проблемы генетического консультирования 33
2.3. Результаты генетического консультирования 33

3 Наследственный диффузный рак желудка 37
(*Немцова М.В., Хоробрых Т.В., Быков И.И.*)

3.1. История вопроса и текущее состояние проблемы 37
3.2. Скрининг и динамическое наблюдение пациентов с наследственным диффузным раком желудка 40
3.3. Протокол эндоскопического исследования при наследственном диффузном раке желудка 41

3.4. Выявление опухолевых очагов, сочетающихся с диффузным наследственным раком желудка 42
3.5. Профилактическая гастрэктомия 44
3.6. Профилактическая мастэктомия 46

4 Использование молекулярных маркеров в диагностике рака желудка 48
(*Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Быков И.И.*)

4.1. Характеристика группы исследования с учетом результатов послеоперационного гистологического анализа 51
4.2. Характеристика системы молекулярных маркеров, исследуемых в операционном материале 52
4.3. Получение тканевого материала для анализа системы маркеров 54
4.4. Анализ метилирования генов 56
4.5. Анализ экспрессии генов 63
4.6. Анализ активности теломеразы 66
4.7. Характеристика системы молекулярно-генетических маркеров в диагностике рака желудка 68
4.8. Возможности использования молекулярно-генетических маркеров на дооперационном этапе 69
4.9. Уточнение хирургической тактики с учетом показателей молекулярных и генетических маркеров 70

5 Роль молекулярных маркеров в определении прогноза рецидива рака желудка 72
(*Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Быков И.И., Чекунова Н.В.*)

5.1. Правомочность резекции желудка с учетом генетических изменений слизистой его культи 72
5.2. Молекулярные прогностические маркеры 78
5.3. Результаты хирургического лечения больных, перенесших резекцию желудка по поводу рака 79
5.4. Возможности использования молекулярных маркеров для прогноза рецидива рака желудка после резекции 87

6 Роль молекулярных маркеров в определении тактики комбинированного лечения больных раком желудка 90
(*Хоробрых Т.В., Немцова М.В., Быков И.И., Удилова А.А.*)

6.1. Подходы к лечению местнораспространенного рака желудка 90
6.2. Отдаленные результаты хирургического лечения больных местнораспространенным раком желудка 96
6.3. Генетические факторы, определяющие эффективность химиотерапии 96

6.4. Взаимосвязь клинических характеристик опухолевого процесса, эффективности лечения местнораспространенного рака желудка с полиморфизмами генов TYMS и TP53 100
6.5. Взаимосвязь полиморфизмов генов TYMS и TP53 с клинико-морфологическими характеристиками опухоли 101
6.6. Взаимосвязь полиморфизмов генов TP53 и TYMS с эффективностью адъювантной химиотерапии на основе 5-фторурацила 106
6.7. Отдаленные результаты лечения больных местнораспространенным раком желудка с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли 109
6.8. Взаимосвязь полиморфизмов гена TYMS с отдаленными результатами комбинированного лечения больных раком желудка 110
6.9. Взаимосвязь полиморфизмов гена TP53 с отдаленными результатами комбинированного лечения больных раком желудка 111
6.10. Возможности использования молекулярных маркеров в определении тактики комбинированного лечения больных раком желудка 112

Послесловие 115

Словарь терминов 117

Список литературы 123

Предисловие

Несмотря на то что время стремительно бежит вперед, панацеи от рака желудка до сих пор не найдено. Единственным надежным видом лечения рака желудка является хирургический, но данный метод дает хороший результат лишь при терапии раннего рака желудка. К сожалению, у большинства пациентов диагноз рака желудка устанавливают на поздних стадиях заболевания, когда хирургическое лечение уже нерадикально, а подчас и невыполнимо. Основные перспективы в лечении рака желудка возлагаются на его своевременную диагностику. В случаях местнораспространенного рака речи об излечении больного уже не идет, но остается вопрос уменьшения страданий пациента, улучшения его качества жизни. Также следует помнить о случаях, когда опухоль достаточно крупная, а морфологического подтверждения не удается получить даже при неоднократных эндоскопических заборах опухолевого материала, при этом увеличение опухоли в 2 раза для распространенных форм рака составляет 2–12 мес., поэтому срок установления диагноза имеет определяющее значение. Одним из перспективных направлений ранней диагностики и выбора тактики ведения пациентов с онкологическими заболеваниями служат онкологические маркеры.

Онкомаркеры — это химические соединения, уровень которых повышается или снижается при развитии злокачественной опухоли в организме. Это преимущественно макромолекулы, в основном белки с углеводным или липидным компонентом. От соединений, продуцируемых нормальными клетками, онкомаркеры отличаются качественно (опухолеспецифические) или количественно (связанные с опухолью, но присутствующие также и в нормальных клетках). Они формируются внутри или на поверхности опухолевых клеток либо образуются в других клетках в результате индукции. Часть онкомаркеров секретируется в кровь, благодаря чему их концентрацию можно определить с помощью иммуноферментного анализа. Среди онкомаркеров выделяют иммунологические (ассоциированные с опухолью антигены или антитела к ним), гормоны (хорионический гонадотропин, адренокортикотропный гормон), ферменты (фосфатазы, лактатдегидрогеназа и др.), продукты обмена (креатин, гидроксипролин, полиамины, свободная ДНК), белки плазмы (ферритин, церулоплазмин, β_2-микроглобулин), белковые продукты распада опухолей.

В идеале онкомаркеры должны помочь в определении риска развития онкологического заболевания, в выявлении предполагаемого источника опухоли до начала более детального обследования, в предупреждении рецидивов рака, оценке эффективности проводимого лечения.

Применительно к выявлению раннего рака желудка перечисленные выше онкомаркеры оказываются диагностически незначимыми, т. к. они определяются на стадии генерализации процесса, когда он уже установлен клинически, а тактика очевидна.

В то же время в отличие от биохимических молекулярно-генетические исследования в области канцерогенеза, в т. ч. закономерностей опухолевого роста, регуляции апоптоза и клеточного деления, достигли несомненных результатов, касающихся именно прогноза и возможной лечебной тактики, однако они далеки от практического клинического использования.

В период коммерциализации медицины наблюдается переход от понятия «пациент» к понятию «клиент», от понятия «периодический осмотр с целью выявить ранние признаки заболевания и, по возможности, его предвестников» к понятию «check-up», от понятия «здравоохранение» к понятию «продажа медицинского продукта и услуг».

В стандартных линейках check-up для выявления рака желудка можно увидеть такие онкомаркеры, как раково-эмбриональный антиген (РЭА), СА 19-9, СА 72-4. Однако практическим врачам не всегда ясно, что данная панель маркеров не может быть основой ранней диагностики рака желудка. Безусловно, эти маркеры себя зарекомендовали, при их повышении можно заподозрить диссеминацию опухолевого процесса, отсутствие эффекта от проводимого противоопухолевого лечения, но для check-up — коммерческого варианта диспансеризации — использование таких маркеров по меньшей мере некорректно и неэтично.

Вопрос оценки эффективности и подбора соответствующих онкомаркеров в конкретной клинической ситуации крайне сложен и требует дальнейшей разработки.

В настоящей монографии, используя результаты собственных исследований, мы попытались показать возможность внедрения в хирургическую практику современных достижений молекулярной медицины. На примере рака желудка оцениваются перспективы использования систем молекулярных маркеров для диагностики, прогноза и определения тактики ведения пациентов с онкологическим заболеванием.

1 Современный взгляд на патогенез рака желудка

1.1. Эпидемиология рака желудка

Опухолевые заболевания различных органов в настоящее время достаточно распространены и входят в число трех наиболее значимых причин смертности населения в мире наряду с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и травмами, занимая среди них 2-е место. В то же время вопросы диагностики, лечения и профилактики этой группы заболеваний далеки от окончательного решения и сохраняют свою актуальность на протяжении многих лет.

В общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения России рак желудка занимает 4-е место, на него приходится 7,3 % всех онкологических заболеваний. Ежегодно в России регистрируется 20–25 тыс. новых случаев рака желудка. Рак желудка занимает также 4-е место в структуре заболеваемости мужского населения, что составляет 9,1 %, а в структуре заболеваемости женского населения — 5-е место, и на него приходится 5,8 %. По общей онкологической смертности рак желудка находится на 2-м месте, его доля составляет 11,5 %. Опухоли желудка выступают причиной смерти 12,3 % мужчин и 10,5 % женщин. Высокие показатели смертности определены тем, что более половины пациентов поступают на лечение с III и IV стадиями процесса [1]. Около 19–20 тыс. больных ежегодно умирают непосредственно от рака желудка, т. е. результаты лечения неутешительны.

Своевременная диагностика ранних форм заболевания оказывается камнем преткновения не только в силу социально-экономических причин. В основе диагностики рака желудка лежит эндоскопическое исследование с морфологической верификацией, однако даже в Японии, где выявляемость раннего рака желудка наиболее высокая в мире, уровень «пропущенных» случаев раннего рака желудка при проведении систематических медицинских осмотров оценивается в 19 % [2]. Сложность определения малого очага, возможность эпителизации раннего рака, увеличение случаев преимущественно подслизистого роста опухоли, неоднозначность морфологической трактовки и самого понятия «облигатный предрак» существенно ухудшают выявляемость ранних форм заболевания. Подозрительный при эндоскопическом исследовании участок слизистой желудка требует морфологического подтверждения диагноза для определения дальнейшей тактики. Ги-

стологическое подтверждение не всегда возможно после однократного забора материала, что требует повторных эндоскопических биопсий. Данные процедуры откладывают срок постановки диагноза и своевременность проведения хирургического лечения, а увеличение опухоли в 2 раза при распространенных формах рака происходит в течение 2–12 мес. [3, 4].

Хотя в основе установления диагноза лежат патоморфологические критерии, правильная трактовка морфологических изменений слизистой оболочки, особенно при тяжелой дисплазии в условиях хронического воспаления и при подслизистом росте опухоли, нередко представляет значительные трудности [5, 6]. Следует отметить, что при постановке морфологического диагноза имеются определенные субъективные аспекты, отдаляющие морфологический диагноз от клинического. Так, морфологический диагноз низкодифференцированной аденокарциномы будет выставлен по препарату, в котором встречаются и клетки перстневидно-клеточного рака, если элементы низкодифференцированной аденокарциномы в количественном эквиваленте преобладают над клетками перстневидно-клеточного рака. В то же время клинически перстневидно-клеточный рак значительно отличается от других форм аденокарциномы по всем своим биологическим характеристикам, в частности мультифокальностью роста, скоростью опухолевой прогрессии, вариантом метастазирования, что обусловливает изначально плохой прогноз и иную лечебную тактику.

Современные достижения в изучении молекулярно-биологических и биохимических процессов опухолеобразования позволили начать использовать в практической медицине биохимические маркеры опухолевого роста, которые в идеале не зависят от субъективных факторов трактовки морфологической картины, в т. ч. в условиях хронического воспаления. Однако на практике оказалось, что данные маркеры эффективны преимущественно в оценке прогноза и прогрессирования уже диагностированного заболевания, а также в оценке ответа на терапию уже генерализованного процесса [4, 7, 8]. Перспективным направлением в диагностике представляется оценка молекулярно-генетических маркеров, которая неплохо зарекомендовала себя в выявлении наследственных онкологических заболеваний, но роль ее в выявлении спорадических онкозаболеваний, в т. ч. рака желудка, до сих пор не определена.

1.2. Рак желудка как мультифакториальное заболевание

Рак желудка представляет собой мультифакториальное заболевание, в патогенезе которого большое значение имеют как наследственные факторы, так и факторы окружающей среды, включая генетический фон организма, воздействие инфекционных агентов и пищевые привычки. Наиболее существенным фактором риска в развитии рак желудка является хронический атрофический гастрит. При

этом мы рассматриваем атрофический гастрит как состояние хронического воспаления, способствующее накоплению ошибок в синтезе ДНК при репликации, а также нарушение репарации ДНК. Кроме того, снижение кислотопродукции при атрофическом гастрите по механизму отрицательной обратной связи способствует повышению выработки гастрина, который помимо стимуляции образования соляной кислоты служит универсальным ростовым фактором слизистой желудка. Гипергастринемия при отсутствии чувствительных к нему клеток в атрофичной слизистой ведет к гипертрофии подслизистого слоя, клинически проявляющейся, например, в развитии болезни Менетрие, являющейся, по сути, предраковым состоянием. Накоплению ошибок в процессе репликации и репарации ДНК неизбежно способствуют многие инфекционные агенты, контаминирующие поврежденную слизистую желудка, которая находится в условиях неизбежного иммунодефицита, приводя к еще большему угнетению противоопухолевого иммунного надзора, что, в свою очередь, обусловливает развитие метаплазии и дисплазии различной степени тяжести.

Согласно классификации P. Lauren [9], рак желудка можно разделить на два больших гистологических типа: диффузный и интестинальный (кишечный). Эти два типа имеют клинические, морфологические и эпидемиологические особенности, которые определяются различными молекулярными механизмами опухолевого развития и прогрессии [10]. Так, для рака желудка интестинального типа характерно существование предраковых состояний с последовательной сменой патоморфологических характеристик слизистой оболочки во времени: хронический атрофический гастрит — кишечная метаплазия — дисплазия — рак. При раке диффузного типа предраковые состояния отсутствуют, заболевание развивается резко, без атрофических изменений.

В основе злокачественной трансформации клетки лежит комплекс молекулярных нарушений, возникающих в геноме клетки, которые различаются в зависимости от типа опухоли и приводят к прогрессирующим патологиям и изменениям гистологической и цитологической структуры ткани [3, 4]. Эти молекулярные изменения первичны по отношению к морфологическим, структурным изменениям слизистой желудка и лежат в их основе [11].

Опухолеобразование представляет собой многостадийный процесс, при котором на разных этапах происходят различные молекулярные нарушения. Это как генетические, так и эпигенетические события, развивающиеся в ходе последовательного многоэтапного канцерогенеза желудка, они включают в себя активацию онкогенов, ростовых факторов и их рецепторов, инактивацию опухолевых супрессоров, генов, регулирующих процессы репарации ДНК, молекул клеточной адгезии, нарушения генов — регуляторов клеточного цикла. Генетические изменения, выявляемые при раке желудка, включают амплификацию генов, точечные мутации, аллельный дисбаланс и делеции; эти нарушения возникают в структуре ДНК. К эпигенетическим изменениям при раке желудка относятся метилирование/деметилирование ДНК, химическая модификация гистоновых белков и нарушение

структуры хроматина, которые приводят к изменению активности генов без повреждения их структуры.

1.3. Роль бактерий и вирусов в патогенезе рака желудка

Бактериально-вирусная контаминация поврежденной слизистой оболочки желудка касается не только *Helicobacter pylori*. Известно, что кроме *H. pylori* в желудке клинически здоровых людей обитают и другие микроорганизмы, в частности лактобактерии (*L. gastricus*, *L. antri*, *L. kalixensis*, *L. ultunensis*), стрептококки, стафилококки, грибы рода *Candida*, бактероиды, коринебактерии, микоплазмы, вирусы герпеса человека всех типов и др. [12]. Инфицирование поврежденной слизистой оболочки всегда происходит в условиях иммунодефицита и неизбежно усугубляет как течение основного заболевания, так и существующий иммунодефицит. В настоящее время широчайшее применение антибиотиков приводит к смене микробиологического окружения человека, пока разработка вироцидных препаратов еще только зарождается и несравнима с антибактериальной индустрией, наступает «золотой век» вирусов. В частности, при различных заболеваниях желудка вирусы герпеса находят у 15–80 % больных.

1.3.1. Вирусы семейства *Herpes viridae*

Герпесвирусная инфекция — это не просто «простуда» на губах. Семейство нейропролиферативных вирусов представлено вирусами герпеса человека (ВГЧ) 1–3-го типов, поражающими в основном нейроны. Вирус простого герпеса (ВГЧ-1) вызывает оральный герпес и энцефалит. Возможность язвообразования под действием вируса простого герпеса доказана М.А. Виноградовой (1997) с использованием прямой иммунофлюоресценции биоптатов слизистой оболочки. Вирус простого герпеса (ВГЧ-2) служит причиной развития генитального герпеса и менингоэнцефалита. *Herpes zoster* (ВГЧ-3) вызывает опоясывающий лишай и ветряную оспу. Вирус Эпштейна—Барр (ВГЧ-4) относится к лимфопролиферативным и вызывает инфекционный мононуклеоз, лимфому Беркитта, назофарингеальный рак. Данный вирус в условиях иммунодефицита, выступая как коканцероген, способствует развитию опухолей ЖКТ, поражая в основном клетки лимфатической ткани [13]. Цитомегаловирус (ВГЧ-5) относится к лимфопролиферативным, является стимулирующим фактором для развития цитомегалии и рака. ВГЧ-6 и -7, имеющие тропизм к Т-лимфоцитам CD4 (лимфопролиферативные вирусы), вызывают поражение нервной системы с развитием синдрома хронической усталости, саркомы Капоши. Они также могут быть источником серьезных осложнений при трансплантации органов, инфицируя клетки иммунной системы. На их фоне мо-

гут возникать менингиты и энцефалиты. Они участвуют в патогенезе фатальных интерстициальных пневмоний. Будучи лимфопролиферативными, ВГЧ-4, -6, -7 и -8 поражают Т- и В-клеточные звенья иммунитета, приводя к развитию иммунодефицитных состояний и генерализованных форм инфекции, сходных по своим конечным проявлениям с действием ВИЧ.

Участие в желудочном канцерогенезе наиболее изучено у ВГЧ-4. Также известно, что герпесвирусная инфекция приводит к подавлению антикоагуляционных факторов, таких как тромбомодулин, простациклин и тканевой активатор плазминогена, с одновременным увеличением тромбоцит-активирующего фактора. В результате создаются условия для развития тромбоза мелких сосудов стенки желудка, приводящего к дополнительному гипоксическому повреждению слизистой оболочки и прогрессированию язвенной деструкции.

Особенно важным представляется изучение сочетанного действия *H. pylory* и вирусов герпеса человека; известно, что коинфекция ВГЧ-1 и *H. pylory* отягощает течение язвенной болезни.

1.3.2. Роль *Helicobacter pylori* в патогенезе рака желудка

Helicobacter pylori — это не единственный патогенный представитель своего рода. Кроме *H. pylori* патогенными для человека и животных являются также обитающие в ротовой полости, желудке и различных отделах кишечника *H. nemesthnae*, *H. acinonychis*, *H. felis*, *H. bizzozeronii* и *H. salomonis*. Виды рода *Helicobacter* — единственные известные на сегодня микроорганизмы, которые могут длительно выживать в чрезвычайно кислом содержимом желудка и даже колонизировать его слизистую оболочку. Способность *H. pylori* колонизировать слизистую оболочку желудка и вызывать гастрит либо язву желудка зависит не только от иммунного статуса организма хозяина, но и от индивидуальных особенностей конкретного штамма бактерии. Одним из важных факторов вирулентности *H. pylori* является наличие у него жгутиков, благодаря которым обеспечивается быстрое движение микроорганизма в слое густой слизи, защищающей слизистую оболочку желудка от воздействия кислоты, ее хемотаксис в места скопления других бактерий этого вида и быстрая колонизация слизистой оболочки. Липополисахариды и белки наружной оболочки бактерии обладают свойством адгезии к наружной оболочке мембран клеток слизистой оболочки желудка. Кроме того, липополисахариды оболочки *H. pylori* вызывают иммунный ответ организма хозяина и развитие воспаления слизистой оболочки. Секретируемые бактерией во внешнюю среду литические ферменты (муциназа, протеаза, липаза) обусловливают деполимеризацию и растворение защитной слизи (состоящей в основном из муцина) и повреждение слизистой оболочки желудка.

Важную роль в вирулентности *H. pylori* и ее способности выживать в кислом содержимом желудка играет секреция бактерией уреазы — фермента, расщепля-

Научно-практическое издание

Александр Федорович **Черноусов**
Татьяна Витальевна **Хоробрых**
Марина Вячеславовна **Немцова**
Игорь Игоревич **Быков**

ГЕНЕТИКА В ПРАКТИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЖЕЛУДКА

Главный редактор канд. мед. наук *Д.Д. Проценко*
Редактор *Е.Б. Родина*
Корректор *И.Ф. Козлова*
Макет, верстка *К.И. Двинина*

Подписано в печать 28.10.2016
Формат 60 × 90$^{1}/_{16}$ Объем 4 п. л. / 8 а. л.
Гарнитура Adonis
Бумага мелованная. Печать офсетная.
Тираж 1000 экз. (1-й завод — 500 экз.)

Издательский дом «Практическая медицина».
115446, Москва, Каширское ш., 23, стр. 5.
Тел. +7 (495) 981-91-03; +7 (499) 324-93-29
e-mail: medprint@mail.ru — редакция,
opt@medprint.ru — реализация.

WWW.MEDPRINT.RU

Отпечатано в типографии филиала
АО «ТАТМЕДИА» «ПИК «Идел-Пресс».
420066, г. Казань, ул. Декабристов, 2
E-mail: idelpress@mail.ru

ISBN 978-5-98811-439-0