



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009
УДК 616.127-005.8-092

Пути повышения эффективности восстановления коронарного кровотока у больных острым инфарктом миокарда

ГОЛИКОВ А.П., заслуженный врач РФ, академик РАМН, профессор,
полковник медицинской службы в отставке
ТЕБЛОЕВ К.И., профессор
СПАССКИЙ А.А., кандидат медицинских наук
ЗАХАРОВ С.В., кандидат медицинских наук, полковник медицинской службы
МИХАЙЛОВ А.А., заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук,
полковник медицинской службы запаса

В патогенезе *острого инфаркта миокарда* (ОИМ), как известно, важную роль играет полное прекращение кровоснабжения участка мышцы сердца в результате острой окклюзии коронарной артерии. Уже спустя 20–40 мин после прекращения кровотока в коронарной артерии начинаются первые деградационные изменения кардиомиоцитов [1], что проявляется в постепенном уменьшении запасов гликогена, набухании митохондрий, разрушении саркоплазматического ретикулума, деструкции митохондрий. Происходит резкое уменьшение окислительного фосфорилирования и одновременное накопление в мышце продуктов анаэробного гликолиза, в частности лактата [7].

Одновременно происходит накопление незэстерифицированных жирных кислот, наблюдается постепенный выход из клеток ионов калия (K^+), в поврежденных митохондриях и цитоплазме миофибрилл накапливаются ионы кальция (Ca^{2+}) вследствие резкого снижения запасов энергетических субстратов в кардиомиоците [1]. В результате накопления лактата, незэстерифицированных жирных кислот, ионов Ca^{2+} запускается порочный круг, который усугубляет ишемию и увеличивает зону некроза. Тем самым из микроскопических некротических изменений миокарда в первые часы прекращения кровотока по коронарной артерии уже спустя 10–12 ч появляются макроскопические очаги некроза мышцы сердца [4, 8]. Это определяет необходимость поиска способов быстрого и эф-

фективного восстановления кровотока в коронарной артерии с целью прекращения коагуляционного некротического процесса и миоцитолита в сердечной мышце.

В настоящее время имеются три способа восстановления кровотока в окклюзированной коронарной артерии. Наиболее распространенный из них — медикаментозный внутрикоронарный тромболизис, который обеспечивает частичное восстановление кровотока в коронарной артерии. Второй способ — хирургическая реваскуляризация миокарда, которая позволяет восстановить кровоток в *инфарктотетивной артерии* (ИОА) путем обходного шунтирования окклюзированного участка. Третий — первичная ангиопластика и стентирование указанной артерии, в результате чего наиболее полно удается восстановить ее проходимость [3].

Однако существует точка зрения, что после восстановления кровотока по ИОА повреждение миокарда может быть не устранено из-за недостатка эндогенных энергетических субстратов, продолжающегося поступления ионов Ca^{2+} и продуктов анаэробного гликолиза в поврежденные клетки [2, 6]. При этом повышается концентрация в крови биохимических маркеров повреждения миокарда — креатинфосфокиназы и лактатдегидрогеназы, а также тропонина I [5].

Стандартная медикаментозная терапия *ишемической болезни сердца* (ИБС) направлена на уменьшение потребности



миокарда в кислороде или на увеличение его доставки посредством вазодилатации. Наибольший интерес представляет группа препаратов метаболической терапии, обеспечивающих улучшение утилизации кислорода миокардом в условиях ишемии. Эффективное медикаментозное воздействие возможно двумя путями (или их сочетанием): 1) использованием метаболической терапии на догоспитальном этапе вместе с основными классами антиангинальных средств; 2) введением препарата непосредственно в реканализированную инфарктотверстную артерию, что могло бы более эффективно и в достаточной концентрации воздействовать на страдающий миокард.

Нашей задачей являлся выбор оптимального препарата, который обладал бы высокой биодоступностью, по механизму действия являлся энергетическим субстратом, легко поступающим в кардиомиоцит, и был бы достаточно долгоживущим. С позиции этих требований наиболее перспективным представляется новый отечественный препарат — мексикор. В литературе имеются доказательства эффективности данного средства при хронических формах ИБС, остром коронарном синдроме без подъема сегмента *ST*, однако нет сообщений об эффективности его применения у пациентов с ОИМ на догоспитальном этапе, а также в сочетании с интервенционными процедурами, системной тромболитической терапией. Представляет интерес изучение влияния препарата на реперфузионное повреждение миокарда.

Все это послужило основанием для проведения исследования, целью которого явилось изучение результативности догоспитальной терапии цитопротектором мексикором с последующим его внутрикоронарным введением в первые часы ОИМ.

Материал и методы

В исследование включены 52 пациента с ОИМ, госпитализированных не позднее 4 ч от начала заболевания. Были сформированы 3 группы. *Первую группу* составили 19 больных, которым на догоспитальном этапе осуществляли сис-

темную тромболитическую терапию в сочетании с внутривенным введением 200 мг мексикора. В стационаре им выполняли механическую реканализацию и ангиопластику ИОА с внутрикоронарным введением мексикора (200 мг). *Вторая группа* — 21 пациент, которым мексикор в дозе 200 мг первично внутрикоронарно вводили во время проведения эндоваскулярной процедуры. Пациентам *третьей* (контрольной) *группы* (12 человек) осуществляли ангиопластику ИОА.

В пределах первых 6 ч от начала заболевания всем были выполнены селективная коронарография, левая вентрикулография, процедура реканализации и ангиопластика ИОА. В исследование включили больных с полной окклюзией коронарной артерии в проксимальной или средней ее трети, с антеградным кровотоком TIMI 0. В первую группу вошли пациенты с обязательным эффективным системным тромболлизом. Формирование второй и третьей групп проводилось в стационаре путем рандомизации больных.

Внутривенное введение мексикора в первой группе начинали на догоспитальном этапе после введения тромболитика в дозе 200 мг на 150 мл *физиологического раствора* (ФР). Пациентам первой и второй групп после первой дилатации ИОА назначали внутрикоронарное введение мексикора (200 мг препарата разводили на 40 мл ФР и вводили в течение 10 мин). После окончания процедуры осуществляли внутривенное (3 раза в день в течение 5 сут), а затем внутримышечное (3 раза в день в течение 9 дней) введение препарата с последующим переходом на пероральную форму приема по разработанной схеме.

Забор крови (5 мл из кубитальной вены) на маркёры повреждения кардиомиоцитов (тропонин I, миоглобин) в соответствии с существующими рекомендациями проводили в момент реканализации и через 12 и 24 ч после выполнения процедуры [11]. После 15-минутной инкубации кровь центрифугировали при скорости 4000 об./мин в течение 10 мин. Сыворотку замораживали при -20 °С. Количественное определение тропонина I и миоглобина



в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител к миоглобину и кардиальной изоформе тропонина I (диагностические наборы «Myoglobin ELISA», «Troponin I ELISA», DRG Instruments GmbH, Германия) на микропланшетном фотометре E-Liza Mat-3000 (DRG International Inc., США) при длине волны 450 нм. Чувствительность используемых диагностических наборов для определения миоглобина и тропонина I составила 5 и 1 нг/мл соответственно. Диагностически значимым при повреждении миокарда считалось увеличение концентрации тропонина I более 1,5 нг/мл и миоглобина более 90 нг/мл.

Эффективность введения препарата на догоспитальном этапе (17 пациентов) определяли с помощью заполнения стандартных опросных карт врачами бригады скорой помощи.

В дальнейшем все пациенты проходили динамическое наблюдение в *отделении реанимации и интенсивной терапии* – ОРИТ (для терапевтических больных), из которого на 3-и сутки от начала заболевания их переводили в кардиологическое отделение. При отсутствии противопоказаний проводили холтеровское мониторирование, *эхокардиографию* (ЭхоКГ), велоэргометрию.

Отличительной особенностью исследования явилось то, что всем пациентам на 10-е сутки течения заболевания выполняли вентрикулографию с последующим сравнительным анализом глобальной и сегментарной сократимости для оценки влияния препарата на гибернирующий и оглушенный миокард. Вычисления проводили с помощью прикладной компьютерной программы. Средний срок пребывания в стационаре составил $12,3 \pm 1,9$ сут.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены исходные клинико-лабораторные данные пациентов изученных групп.

Большинство больных курили, страдали артериальной гипертонией и нарушениями липидного обмена. ОИМ в анамнезе не было ни у одного из них.

В первой группе пациенты поступили в стационар в среднем спустя 4,7 ч от начала ангинозного приступа, во второй – через 4,5 ч, в третьей – через 4,2 ч; разброс составлял от 1,5 до 5 ч. У всех больных на ЭКГ отмечали формирование зубца Q в отведениях, соответствующих зоне ОИМ, в сочетании с элевацией сегмента ST в этих же отведениях. У 2 (10,5%) пациентов в первой, у 3 (14,3%) во второй и у 3 (25%) в третьей группе в момент поступления наблюдали частые желудоч-

Таблица 1

Исходные клинико-анамнестические и лабораторные данные обследованных, $\bar{x} \pm m_x$

Показатель	Группа		
	первая, <i>n</i> =19	вторая, <i>n</i> =21	третья, <i>n</i> =12
Средний возраст, лет	52±8	55±9	59±11
Мужчин в группе, %	90,9±2,7	80,5±3,5	83,3±3,6
Гипертоническая болезнь, %	54,5±3,9	64,2±4,1	58,3±3,8
Курение, %	63,6±3,7	69,7±4,4	66,7±3,6
ИБС в анамнезе, мес	4,8±0,1	6,4±0,2	7,2±0,3
Гиперхолестеринемия, моль/л	54,5±3,9	67,3±3,4	58,3±3,8
Гипертриглицеридемия, моль/л	63,6±3,7	57,6±4,2	38,5±4,2
Фракция выброса левого желудочка, %	41,0±0,9	45,0±0,9	39,0±0,7
Недостаточность кровообращения, %	33,3±3,7	18,2±3,7	36,1±4,2

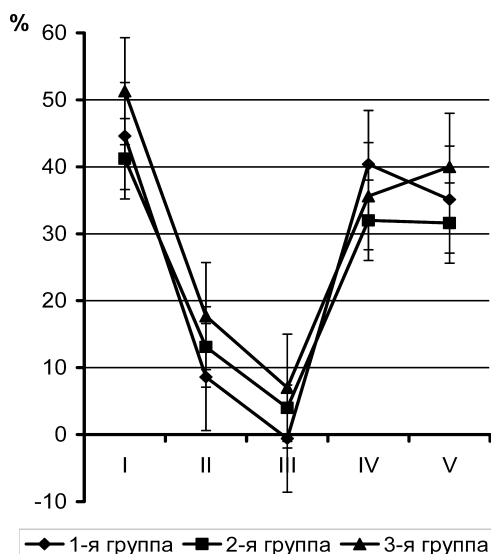


Рис. 1. Сегментарная сократимость миокарда левого желудочка в группах обследованных

ковые экстрасистолы (единичные или парные). У 3 (14,3%) больных во второй группе и у 3 (15,8%) в первой отмечали нарушение внутрисердечной проводимости (неполную блокаду левой ножки пучка Гиса). Недостаточность кровообращения проявлялась в виде небольшого количества хрипов в нижних отделах легких, одышки в покое и тахикардии.

По данным контрастной вентрикулографии фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) составила в среднем

$43 \pm 9\%$. Средние значения глобальной и сегментарной сократимости ЛЖ в исследуемых группах приведены на рис. 1.

Чаще отмечался выраженный акинез переднелатерального и верхушечного сегментов ЛЖ (от 42 до 51%).

Вместе с тем в неповрежденных сегментах ЛЖ наблюдали компенсаторный гиперкинез, который, по данным ЭхоКГ, снижался и возвращался к норме через 1–2 нед. Непосредственно после диагностической процедуры селективной коронароангиографии выполнялась интервенционная эндоваскулярная процедура (баллонная ангиопластика и/или стентирование ИОА). Некоторые клинко-ангиографические характеристики в изученных группах больных представлены в табл. 2.

В 95% случаев внутри- и межсистемный коллатеральный кровоток у обследуемых пациентов отсутствовал. Лишь у одного больного первой группы отмечали наличие 1-й степени коллатерального заполнения дистального русла окклюзированной артерии по межсистемным коллатералям. Ангиопластику выполняли в среднем через $5,3 \pm 0,5$ ч от начала ангинозного приступа в первой группе, через $4,9 \pm 0,4$ ч – во второй и через $4,8 \pm 0,4$ ч – в третьей. Во всех случаях процедура была успешной: отсутствовали угрожающая диссекция, эмболизация дистального русла, не наблюдалось за-

Таблица 2

Исходные клинко-ангиографические данные обследованных, $\bar{x} \pm m_x$

Показатель	Группа		
	первая, $n=19$	вторая, $n=21$	третья, $n=12$
Средний диаметр сосуда, мм	$3,5 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,4$
Средняя протяженность окклюзии, мм	23 ± 6	21 ± 7	24 ± 6
Среднее количество пораженных артерий	$1,3 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,4$
Наличие коллатералей, %	10	0	0
Предилатация, %	100	100	100
Среднее время процедуры, мин	67 ± 11	57 ± 14	71 ± 12
Среднее время исследования, мин	$20,9 \pm 6,8$	$23,3 \pm 8,2$	$18,3 \pm 5,9$
Средний расход контраста, мл	327 ± 56	317 ± 63	348 ± 69
Достигнутый успех процедуры, %	100	100	100



медления антеградного кровотока. Средний расход контрастного вещества в группах был примерно одинаков. Реканализацию коронарной артерии выполняли гидрофильными проводниками. Для адекватной оценки ангиометрических характеристик окклюзии проводили предилатацию баллоном диаметром 1,5–2 мм. После этого исследовали пораженный участок с помощью цифровой компьютерной ангиографии с последующим выбором баллона необходимого диаметра и достижением адекватного ангиографического результата. После выполнения процедуры больных в течение 1–2 сут наблюдали в ОРИТ (осложнений и летальных исходов не зарегистрировано), затем их переводили в кардиологическое отделение.

У всех пациентов течение заболевания на госпитальном этапе было гладким, серьезных осложнений не наблюдалось. Больные получали принятую в кардиохирургическом центре медикаментозную терапию. Различий по антиангинальной терапии не было (табл. 3).

Дезагрегантная терапия после эндоваскулярной процедуры была стандартной: тиклопидин в дозе 500 мг/сут в течение месяца и постоянно аспирин – 100 мг/сут. Через неделю после ее проведения всем больным выполняли повторную ЭхоКГ, а спустя 10 дней при отсутствии противопоказаний оценивали толерантность к физической нагрузке с помощью велоэргометрии. Пациентам, течение заболевания у которых осложни-

лось развитием аневризмы передней стенки ЛЖ, пробу с физической нагрузкой не проводили.

По данным ЭхоКГ в первой и второй группах не наблюдали какой-либо динамики показателей ФВ ЛЖ по сравнению с исходными, тогда как в третьей группе отмечали снижение этого показателя в среднем на 12% – соответственно 46 ± 8 , 49 ± 8 , $37 \pm 6\%$ (различия достоверны, $p < 0,05$). Аневризму левого желудочка наблюдали у 3 больных в первой, у 2 – во второй и у 5 – в третьей группе (различия недостоверны из-за малого числа наблюдений). Более высокую толерантность к физической нагрузке наблюдали в первых двух группах (различия из-за малого количества наблюдений также недостоверны).

Известно, что исследование некоторых компонентов крови может дать важную информацию как о качественных, так и о количественных характеристиках ишемического повреждения миокарда [13]. Наиболее важными из них являются тропонины – белки, локализирующиеся на тонких миофиламентах сократительного аппарата кардиомиоцитов. Тропоновый комплекс состоит из 3 компонентов – тропонинов С, Т, I. Кардиальные тропонины Т и I являются специфичными белками повреждения кардиомиоцитов, имеющими приблизительно одинаковую чувствительность и специфичность [10, 12]. Минимальное время повышения уровня тропонина после окклюзии ИОА составляет 4–6 ч [9, 10].

Таблица 3

Медикаментозная терапия в изученных группах, %

Медикаменты	Группа		
	первая, $n=19$	вторая, $n=21$	третья, $n=12$
Нитраты	$90 \pm 3,1$	$90 \pm 3,1$	$80 \pm 4,2$
β -блокаторы	$80 \pm 4,2$	$72 \pm 4,2$	$80 \pm 4,2$
Антагонисты Са	$50 \pm 5,2$	$40 \pm 5,2$	$40 \pm 5,1$
Антиангинальные препараты:			
одной группы	0	0	0
двух групп	$60 \pm 5,0$	$60 \pm 5,0$	$70 \pm 4,8$
трех групп	$40 \pm 5,1$	$40 \pm 5,1$	$30 \pm 4,8$



Первый забор крови на маркёры повреждения проведен в момент реканализации ИОА. Диапазон значений концентраций тропонина I в крови в изученных группах колебался от 0 до 20 нг/мл, в среднем 9 ± 5 нг/мл в первой группе против 13 ± 6 нг/мл в группе контроля (различия статистически недостоверны). Поскольку одной из задач нашего исследования была оценка влияния внутрикоронового введения мексикора на реперфузионное повреждение кардиомиоцитов при ангиопластике ИОА в острый период развития инфаркта, а также изучение эффективности догоспитального введения препарата, то вторую контрольную точку забора крови определяли через 12 ч как максимум повышения концентраций тропонина после реперфузии ИОА [9, 11]. В первой группе пациентов первый забор выполнили сразу после поступления в стационар, а во второй — через 12 ч от клинических проявлений реперфузии, возникших в машине скорой помощи. Время третьего контрольного забора ферментов — спустя 24 ч. Концентрация диагностического белка в изученных группах достоверно различалась ($p < 0,05$) — рис. 2.

Максимальные различия концентрации тропонина I через 12 ч наблюдали между второй и третьей группами ($p < 0,05$), что может указывать на меньшее повреждение кардиомиоцитов. Между первой и третьей группами отмечали тенденцию ($p = 0,07$) к снижению уровня кардиоспецифичных ферментов (вследствие реперфузионного повреждения кардиомиоцитов), что свидетельствует о восстановлении кровотока в ИОА.

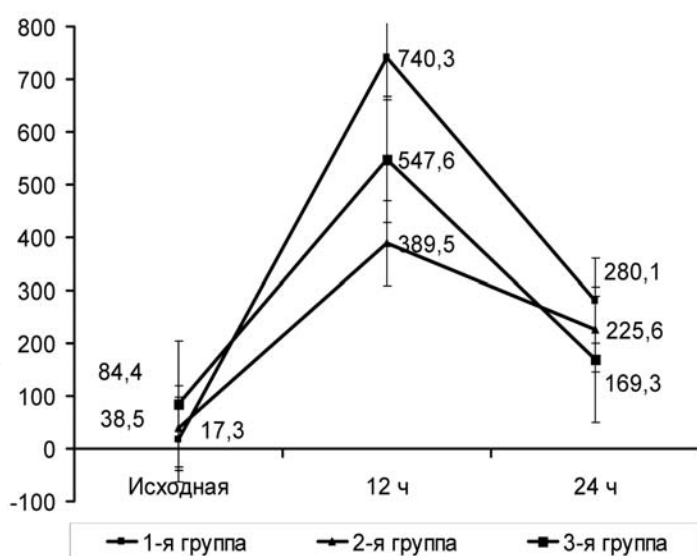


Рис. 2. Динамика абсолютной концентрации тропонина I

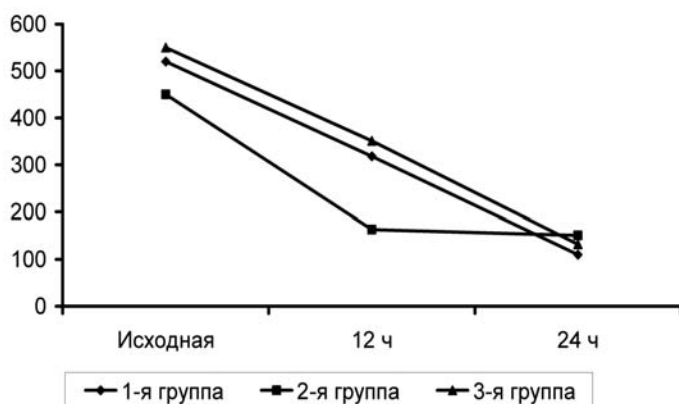


Рис. 3. Динамика абсолютной концентрации миоглобина

Чувствительным маркёром неспецифического повреждения миокарда служит также миоглобин. Динамика изменения его концентрации при развитии ОИМ представлена на рис. 3.

Исходный уровень миоглобина во всех группах был приблизительно равным (достоверных различий не найдено), но на второй контрольной точке отмечена тенденция к снижению его концентрации во второй группе по сравнению с третьей.

Всем пациентам на 10-е сутки течения заболевания была выполнена контрольная вентрикулография для оценки



динамики глобальной и сегментарной сократимости миокарда ЛЖ. Динамика ФВ ЛЖ а также *конечного диастолического объема левого желудочка* (КДО ЛЖ) и *конечного систолического объема левого желудочка* (КСО ЛЖ) в исследуемых группах показана на рис. 4–6.

В группе с использованием цитопротектора мексикора отмечали достоверно более высокую ФВ, а также достоверную положительную динамику КДО и КСО ЛЖ на 10-е сутки заболевания по сравнению с контрольной группой.

Основным в проведенной работе нам представляются два последовательных шага. *Во-первых*, введение цитопротектора мексикора на догоспитальном этапе. *Во-вторых*, ограничение реперфузионного повреждения кардиомиоцитов путем введения их непосредственно в ИОА после ее реканализации и ангиопластики. Немаловажно и то, что применение метаболической терапии мексикором на госпитальном этапе благоприятно влияло на гибернирующий миокард, что подтвердилось при сравнении глобальной и сегментарной сократимости миокарда ЛЖ исходно и на 10-е сутки течения заболевания.

Как известно, более ранняя реканализация способствует ограничению зоны инфаркта. Для этого требуется своевременная доставка больного в стационар. Интервал времени от звонка пациента диспетчеру станции скорой помощи до госпитализации в *блок интенсивной терапии* (БИТ) в нашем исследовании был меньше по сравнению с данными некоторых зарубежных исследований и составил в среднем 107 ± 34 мин, что позволяло раньше выполнить реканализацию и ангиопластику ИОА. Кроме того, некоторым больным наряду с тромболитической терапией назначали цитопротектор. Эти пациенты чувствовали себя лучше и ко времени поступления в БИТ у них отмечались более стабильные величины *артериального давления* (АД), менее остро протекал реперфузионный синдром (уменьшились количество экстрасистол и отмечалось не столь значительное падение АД, реже наблюдались тошнота, рвота).

Результаты экспериментальных работ свидетельствуют: чем раньше начата метаболическая терапия, тем менее выражено реперфузионное повреждение кар-

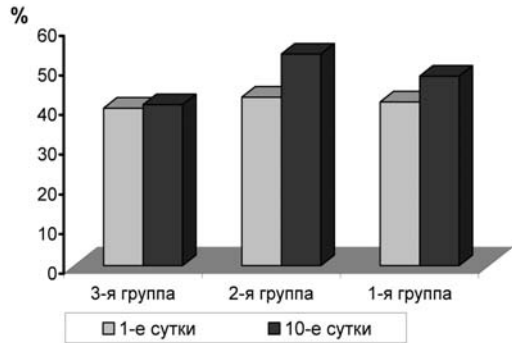


Рис. 4. Динамика ФВ ЛЖ

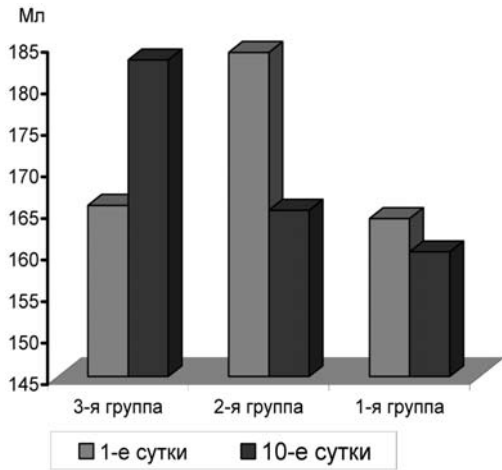


Рис. 5. Динамика КДО ЛЖ

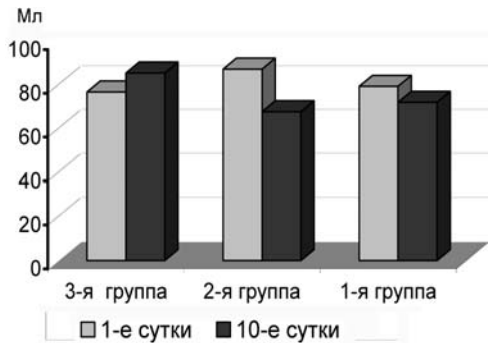


Рис. 6. Динамика КСО ЛЖ

диомиоцитов. Низкая эффективность такой терапии может быть обусловлена недостаточной дозой и/или неадекватным воздействием вводимого препарата. Новый отечественный цитопротектор мексикор является одним из первых метаболических препаратов с принципиально иным механизмом действия. Он достаточно быстро накапливается в мыш-



це сердца и имеет длительный период полувыведения. При внутривенном введении благоприятно влияет на ограниченные зоны повреждения как при острой ишемии, так и при остром инфаркте, что связано с выраженными кардиопротективными свойствами препарата, обеспечивающими улучшение митохондриального транспорта, энергетики оглушенного и гибернирующего миокарда в условиях острой и хронической ишемии.

Мы предположили, что введение препарата непосредственно в ИОА по сравнению с внутривенным окажется более эффективным для профилактики реперфузионного повреждения кардиомиоцитов. Это предположение было подтверждено данными биохимических анализов кардиоспецифичных ферментов: выявлено практически двукратное достоверное снижение концентрации специфического маркера некроза кардиомиоцитов тропонина I в группе с внутрикоронарным введением мексикора по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

1. Восстановление коронарного кровотока в первые 4 ч от момента развития ОИМ является патогенетическим способом лечения заболевания, определяющим его дальнейшее течение и прогноз.

2. Первичная ангиопластика и стентирование инфарктотетственной коронарной артерии — наиболее эффективный и радикальный метод восстановления коронарного кровообращения у больных ОИМ.

3. Профилактика реперфузионного повреждения миокарда с помощью кардиопротектора мексикора способствует значительному повышению клинической эффективности методов восстановления коронарного кровообращения. Максимальный успех достигается при внутрикоронарном введении препарата непосредственно после успешной ангиопластики инфарктотетственной коронарной артерии.

Литература

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). — М.: Медицина, 1989. — 368 с.
2. Голиков А.П., Полумисков В.Ю., Руднев Д.В. и др. Новое в профилактике и диагностике реперфузионного повреждения при инфаркте миокарда // Тез. докл. XII съезда терапевтов УССР. — Киев, 1987. — С. 72–73.
3. Иоселиани Д.Г., Филатов А.А., Роган С.В. и др. Восстановление кровотока в инфарктотетственной венечной артерии при остром инфаркте миокарда: эффективно или только эффективно? // Междунар. журн. интервенционной кардиоангиологии. — 2003. — № 1. — С. 33–39.
4. Корначёва О.В., Висков Р.В. и др. Патогенез и клиника экстремальных состояний: Материалы науч.-практ. конф. — Омск, 1998. — С. 97–102.
5. Определение концентрации изофермента МВ креатинкиназы // MI J. Am. Coll. Cardiol. — 1998. — Vol. 31. — P. 1499–1505.
6. Руднев Д.В., Пичугин В.В., Конорев Е.А. и др. Диагностика и профилактика реперфузионного повреждения миокарда в условиях экспериментального инфаркта миокарда // Кардиология. — 1988. — Т. 28, № 12. — С. 94–97.

7. Спиридакис Н. Физиология и патофизиология сердца. — М.: Медицина, 1988. — Т. 2. — С. 348–349.
8. Сыркин А.Л. Инфаркт миокарда. — М.: Медицина, 1991. — С. 38–40.
9. Филиппенко М.Б., Староверов И.И. и др. Определение сердечного тропонина Т и массы креатинкиназы в диагностике острого инфаркта миокарда // Кардиология. — 2001. — № 3. — С. 17–20.
10. Chapelle J.P. Cardiac troponin J and troponin T: recent players in the field of myocardial markers // Clin. Chem. Lab. Med. — 1999. — Vol. 37, N 1. — P. 11–20.
11. Katus H.A., Remppis A., Scheffold T. et al. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction // Am. J. Cardiol. — 1991. — Vol. 67, N 16. — P. 1360–1367.
12. Plebani M., Zaninotto M. Diagnostic strategies in myocardial infarction using myoglobin measurement // Eur. J. Cardiol. — 1998. — Vol. 19. — P. 12–15.
13. Ravkilde J., Horder M., Gerhardt W. et al. The predictive value of cardiac troponin T in serum of patients suspected of acute myocardial infarction // Scand. J. Clin. Invest. — 1993. — Vol. 53. — P. 677–685.