

**Л.Н.Тарасова<sup>1</sup>, С.Г.Владимирова<sup>1</sup>, В.В.Черепанова<sup>2</sup>, Н.А.Зорина<sup>1</sup>,  
И.А.Докшина<sup>1</sup>**

**НАРУШЕНИЯ СВЕРТЫВАНИЯ И МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ  
ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО СИНДРОМА ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПРОМИЕЛОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

<sup>1</sup>ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови

ФМБА России»,

<sup>2</sup>ГБУЗНО «Городская больница №33», Нижний Новгород

Ранняя летальность у больных острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ) до постановки диагноза и начала терапии составляет, по данным Tallman [19], 10%; ее причиной при лечении по современным протоколам являются кровоизлияния в основном в центральную нервную систему [19,20]. Сравнительно недавно (в 90-е годы) в развитии коагулопатии при ОПЛ отечественные авторы отводили синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) и вторичному гиперфибринолизу, имеющему защитный характер, а генез геморрагий считали как результат коагулопатии потребления и тромбоцитопении [2]. Зарубежные же авторы при возникновении геморрагий делали акцент на первичный гиперфибринолиз, затем - ДВС- синдром; каждый из них отдельно и совместно мог быть причиной запуска геморрагий при ОПЛ [7]. В настоящее время установлено, что коагулопатия при этом варианте острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) вызвана как первичным фибринолизом, так и ДВС [4,19].

Активация систем первичного гиперфибринолиза и протеолиза происходит по причине высвобождения из гранул промиелоцитов эластазы, разрушающей альфа-2-антиплазмин, поступления в сосудистое русло активаторов плазминогена урокиназного (u-PA) и тканевого (t-PA) типов, лизосомальных ферментов катепсина G и протеиназы 3 [16]. Под действием протеаз разрушается фактор Виллебранда [8], а под действием плазмина – факторы VIII и V [1]. Высокий уровень продуктов деградации фибриногена/фибрина (ПДФ) и активаторов плазминогена, который ассоциируется со сниженной активностью плазминогена, альфа-2-антиплазмينا и ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1), а также повышением D-димеров, указывают на первичный гиперфибринолиз [21]. Следует также обратить внимание на то, что образовавшиеся фибриновые сгустки у этих больных более чувствительны к лизису по причине сниженной активности ингибитора фибринолиза карбоксипептидазы В [13]. Есть сведения о патологическом повышении экспрессии аннексина-II – кофактора t-PA, что увеличивает образование плазмина в промиелоцитах в 60 раз [14]. Учитывая все это, Т.Matsuda [12] назвал кровотечения при ОПЛ типичным примером фибринолиз-доминантного ДВС-синдрома.

Мнения разных исследователей относительно уровня естественных антикоагулянтов при этом заболевании до сих пор расходятся. Одни находят у больных ОПЛ снижение протеина С - прС [5], другие - что уровень его и

антитромбина (АТ) остается в пределах нормы; последнее не характерно для типичного ДВС [21]. Наличие инфекции приводит к уменьшению антитромбина, но не у всех больных [9].

Лабораторно коагулопатия при ОПЛ характеризуется низким уровнем фибриногена, удлинённым протромбиновым и тромбиновым временем. Уровень физиологических антикоагулянтов, согласно современным данным, чаще бывает нормальным. Все это свидетельствует о наличии как первичного фибринолиза, так и ДВС [13]. Факторы, увеличивающие риск кровотечений при ОПЛ, как и при других формах и вариантах острых лейкозов, - это миелотоксическая тромбоцитопения, коагулопатия, вызванная самим лейкозным процессом, действием цитостатических препаратов, инфекционными осложнениями, печеночной и почечной недостаточностью [10]. Таким образом, выраженный геморрагический синдром при этой патологии обусловлен сложной коагулопатией с преобладанием фибринолиза.

Большим достижением в лечении ОПЛ явилось использование в последние 2 десятилетия в протоколах таких дифференцирующих веществ, как полностью транс-ретиноевая кислота (all-transretinoic acid – АТРА) и триоксид мышьяка; частота полных ремиссий достигла 95% [6,17,18].

АТРА относится к ретиноидам - производным витамина А; она участвует во многих физиологических процессах, в том числе связанных с дифференцировкой клеток и иммунологическими реакциями. Влияние ее на систему свертывания многогранно. Она может изменять гемостатические свойства как нормальных клеток (эндотелиоцитов и моноцитов), так и патологических (лейкозных промиелоцитов). Угнетая выработку ракового прокоагулянта, тканевого фактора (ТФ), выделяемых промиелоцитами, АТРА снижает общую прокоагулянтную активность крови. С одной стороны, она увеличивает экспрессию активаторов плазминогена – t-РА и u-РА, а с другой – ингибитора активаторов плазминогена PAI-1, в результате чего время эуглобулинового лизиса, характеризующего общую фибринолитическую активность плазмы, либо остается в норме, либо удлиняется, а начальный показатель фибринолиза – уровень D-димеров снижается [3]. АТРА не оказывает непосредственное влияние на синтез эластазы и хемотрипсина, разрушающих фибриноген и фактор Виллебранда и повышающих активность фибринолиза путем протеолиза альфа-2-антиплазмина и ингибитора C1 эстеразы. Однако, при ее применении было отмечено уменьшение протеолиза фактора Виллебранда [8], а также снижение продукции аннексина-II, кофактора t-РА.

Поскольку АТРА увеличивает синтез цитокинов, стимулирующих выработку эндотелием прокоагулянтов и ингибиторов активации фибринолиза, а также оказывающих тромбомодулиновый эффект, она способствует повышению прокоагулянтной активности. Следовательно, это должно увеличивать протромботический потенциал эндотелия; однако, благодаря влиянию АТРА на эндотелиоциты, этот эффект смягчается [3]. Она защищает клетки эндотелия от протромботического и

антитромбомодулинового действия цитокинов, может усиливать экспрессию тромбомодулина эндотелиальными клетками, через комплекс тромбомодулин-тромбин запускать системы ПрС и ПрS, инактивирующие факторы VIIIa и Va, тем самым увеличивать противосвертывающий потенциал. С одной стороны, АТРА повышает синтез t-РА эндотелием, с другой (в меньшей степени) - ингибитора активатора плазминогена (РАI-I), предупреждая избыточный фибринолиз [3]. Таким образом, комплексное воздействие АТРА на гемостаз больных ОПЛ проявляется в быстром устранении геморрагического синдрома, коррекции нарушений в системе свертывания крови через 1 – 2 недели лечения; то есть, использование ее в этом аспекте эффективно. Уже через 4 дня терапии снижаются уровни маркеров активации свертывания крови. Однако, быстрая коррекция указанных показателей фибринолиза/протеолиза наблюдается одновременно с более продолжительным наличием повышенной прокоагулянтной активности, что, наряду с угнетением системы фибринолиза, может приводить к претромботическому состоянию. Действительно, есть сведения об активации свертывающей системы даже в ремиссии ОПЛ, о чем свидетельствуют повышение уровня ТФ и комплекса тромбин – антитромбин III [21]. В настоящее время доказано, что условием эффективности АТРА является наличие у пациента t (15;17); при ее отсутствии у подавляющего большинства больных наблюдается резистентность к лечению изомерами ретиноевой кислоты.

Обладая положительными свойствами, АТРА вызывает, однако, осложнения, в частности, такие тяжелые, как дифференцировочный синдром - ДС (иначе – АТРА-синдром, синдром ретиноевой кислоты). Он характеризуется следующими признаками и симптомами: диспноэ, необъяснимой лихорадкой, прибавкой в весе более 5кг, необъяснимой гипотензией, острой почечной недостаточностью, подтвержденной рентгенографически инфильтрацией легких или плевроперикардальным выпотом. При тяжелом ДС наблюдаются 4 и более клинических признаков/симптомов его, при умеренном – 2-3 [11,15,17]. Кроме того, ДС часто ассоциирован с развитием гиперлейкоцитоза, отека легких, анасаркой, головной болью и болью в костях. Это осложнение считается ранним, если оно развилось, согласно Р.Montesinos [15], в первые 7 дней приема АТРА, и поздним – после 7 дней.

В литературе, особенно отечественной, мало сведений о прогностических факторах развития ДС у пациентов, получающих АТРА. Целью нашего исследования явилось определение ряда биохимических и гемостазиологических показателей, а также морфологической картины крови, которые могли бы явиться факторами раннего прогноза развития ДС у больных ОПЛ при проведении им терапии, включающей АТРА.

Были обследованы 28 пациентов с впервые диагностированным ОПЛ. После постановки диагноза все больные получали АТРА (весаноид, Швейцария). ДС развился у 15 лиц (1 группа); у 13 человек (2 группа) этого синдрома не было. Умеренный ДС наблюдали у 12 пациентов, тяжелый – у 3.

У 12 лиц развился ранний ДС (на 2-5 дни приема АТРА; медиана – 4 день), у 3 - поздний (на 12, 13 и 14 сутки приема весаноида). Отмена препарата потребовалась 6 больным, а перерыв в лечении - 4.

При поступлении в стационар у 11 (73,3%) пациентов 1 группы была фебрильная лихорадка (от 38,1 до 40,2°C), а у 4 (26,7%) – субфебрильная (37,0 - 37,6°C). Фебрильная температура выявлена только у 3 пациентов 2 группы (23,1%), субфебрильная – у 7 (53,8%), нормальная – у 3 (23,1%). Группы значительно различались между собой по наличию фебрильной лихорадки до начала лечения (точный двусторонний критерий Фишера:  $p=0,021$ ). Следовательно, лица, имеющие фебрильную температуру при диагностике заболевания, склонны к развитию ДС при лечении весаноидом. По наличию инфекционных осложнений при манифестации заболевания группы были сопоставимы (точный двусторонний критерий Фишера:  $p=0,333$ ).

Обследование больных проводили при диагностике заболевания (до начала приема АТРА) и в динамике терапии. У пациентов 1 группы анализировали результаты дня, предшествующего развитию ДС, и 1-2 сутки проявления его клинических симптомов. Так как ДС в среднем развивался на 4 день приема весаноида, показатели 2 группы также оценивали на 2-4 (перед развитием синдрома) и 5-7 дни приема АТРА.

При манифестации заболевания результаты анализов крови больных двух групп значительно различались лишь по количеству тромбоцитов (табл.): в 1 группе медиана составила  $16 \times 10^9/\text{л}$ , во 2 -  $75 \times 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ). Индекс АПТВ отличался от нормы у пациентов 1 группы ( $p < 0,05$ ), а у лиц 2 – соответствовал ей ( $p > 0,05$ ). Протромбиновый индекс (ПТИ) и уровень фибриногена были снижены относительно нормы у больных обеих групп ( $p < 0,05$ ), а медиана времени ХПа-ЗЭЛ не отличалась от нормальных величин ( $p > 0,05$ ).

Количество лейкоцитов и промиелоцитов в периферической крови больных обеих групп достоверно не различалось на всем протяжении исследования ( $p > 0,05$ ); отмечено лишь увеличение медианы количества лейкоцитов в 1 группе относительно 2. Наши данные соответствуют результатам Р.Montesinos [15] и М.Luesink [11], которые рассматривают этот показатель как часто проявляющийся, но не обязательный признак уже развившегося ДС.

Количество тромбоцитов у больных 1 группы перед развитием ДС не отличалось от исходного и было значительно меньше, чем у пациентов 2 группы ( $p < 0,05$ ). Однако, во время проявления клинических симптомов ДС оно повысилось с  $19 \times 10^9/\text{л}$  до  $30 \times 10^9/\text{л}$ , но не достигло значений пациентов 2 группы -  $75 \times 10^9/\text{л}$ .

Таблица - Некоторые показатели свертывающей системы, биохимии и морфологии крови у больных 1 и 2 групп

Показатели	Сравниваемые группы / Этапы исследования
------------	--

	1 группа до приема АТРА	2 группа до приема АТРА	1 группа перед развитием ДС	2 группа 2-4 сутки терапии АТРА	1 группа 1-2 сутки клиники развития ДС	2 группа 5-7 сутки терапии АТРА
Индекс АПТВ	1,16 (0,84-1,44)	1,05 (0,97- 1,53)	1,13 0,92-2,77)	1,06 (0,7- 2,26)	0,97 (0,78- 1,28) * §	1,07 (0,73-1,9)
ПТИ, %	77 (66-96)	86 (63-108)	79 (70-90)	85 (58-108)	<b>83</b> <b>(68-93)</b>	<b>90</b> <b>(80-108)</b>
Время ХШа- ЗЭЛ, мин	8,5 (5,0- 65,0)	11,99 (5,2- 65,0)	9,92 (3,3- 28,8)	9,59 (5,0-37)	13,75 (7,7-38,5)	15,0 (6,5-34,0)
Фибриноген, г/л	1,75 (0,97-4,3)	2,21 (1,0-4,5)	<b>1,78</b> <b>(0,5-3,8)</b>	<b>2,77</b> <b>(0,5-6,0)</b>	2,66 (0,6-3,8) * §	3,0 (1,0-5,0)
Тромбоциты , ×10 <sup>9</sup> /л	<b>16</b> <b>(5-110)</b>	<b>75</b> <b>(5-187)</b>	<b>19</b> <b>(10-90)</b>	<b>60</b> <b>(30-180)</b>	<b>30</b> <b>(5-100) *</b>	<b>75</b> <b>(45-180)</b>
Мочевина, ммоль/л	6,1 (2,6- 13,1)	5,4 (3,5-9,7)	<b>8,5</b> <b>(5,9- 14,1) **</b>	<b>5,9</b> <b>(3,2-8,6)</b>	<b>11,3</b> <b>(4,3-24)</b> * §	<b>6,5</b> <b>(2,1- 13,9)</b>
Креатинин, мкмоль/л	93 (43-171)	85 (38-188)	91 (55-153)	62 (48-111)	110 (45-214) * §	78 (38-178)
Гемоглобин, г/л	80 (53-114)	93 (58-118)	<b>73</b> <b>(59-93)</b>	<b>88</b> <b>(60-109)</b>	<b>71</b> <b>(45-87)</b> * §	<b>87</b> <b>(72-111)</b>
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	3,0 (0,5-87)	1,7 (0,45-12,1)	8,1 (0,7-41)	2,0 (0,5- 29,6)	10,0 (0,2- 70,74)	1,4 (0,4- 33,2)
Промиелоциты периферическ ой крови, ×10 <sup>9</sup> /л	1,70 (0,1-81,8)	0,551 (0,0-10,7)	6,141 (0,1-22,2)	1,33 (0,0-20,1)	2,031 (0,0-62,3)	0,016 (0,0- 20,8)

Примечания: **Подчеркивание** -  $p < 0,05$  при сравнении показателей 1 и 2 групп (критерий Манна-Уитни);

$p < 0,05$  при сравнении показателей одной и той же группы в динамике (критерий Уилкоксона): \* - до приема АТРА и 1-2 сутками развития клинических симптомов ДС; \*\* - до приема АТРА и днем, предшествующим развитию ДС; § - перед развитием ДС и 1-2 сутками проявления клинических симптомов ДС.

Содержание гемоглобина, одинаковое у больных обеих групп в дебюте заболевания, различалось в день, предшествующий развитию ДС, и при его клиническом проявлении. При ДС оно снизилось как по отношению к исходному уровню, так и по сравнению с днем перед его развитием ( $p < 0,05$ ). У лиц 2 группы такой динамики не выявлено ( $p > 0,05$ ).

У пациентов 1 группы прослеживалось достоверное снижение индекса АПТВ; он нормализовался перед развитием ДС и составил в среднем 1,13, а на момент развития синдрома снизился до 0,97, что было значимо по отношению к исходным величинам и таковым перед развертыванием клинической картины синдрома ( $p < 0,05$ ). Подобная динамика не была характерна для пациентов 2 группы.

Как перед развитием ДС, так и на момент проявления его клинической картины, ПТИ был ниже нормы ( $p < 0,05$ ). Однако найдены достоверные различия его у лиц 1 и 2 групп при развитии клинических симптомов ДС. Время ХПа-ЗЭЛ имело лишь тенденцию к удлинению на 2-4 дни приема весаноида у пациентов обеих групп. На 5-7 сутки оно значимо превысило нормальные величины в 1 и 2 группах, составив 13,75 и 15,0 мин соответственно ( $p < 0,05$ ). Концентрация фибриногена нормализовалась у лиц 2 группы к 2-4 суткам терапии. В 1 группе данный показатель перед развитием ДС по-прежнему был снижен относительно нормы и 2 группы ( $p < 0,05$ ). Во время проявления симптомов ДС содержание фибриногена повысилось по сравнению с уровнями исходным и перед развитием данного синдрома ( $p < 0,05$ ), но не отличалось от нормы и результатов 2 группы ( $p > 0,05$ ).

Концентрация мочевины у больных 1 группы прогрессивно возрастала: от исходной – 6,1 ммоль/л, до 8,5 ммоль/л в день, предшествующий ДС. При признаках синдрома уровень мочевины составил 11,3 ммоль/л. У пациентов 2 группы ее содержание не изменялось в течение всего времени лечения весаноидом; оно достоверно различалось между группами ( $p < 0,05$ ).

Количество креатинина у больных двух групп было одинаково ( $p > 0,05$ ). Однако, у лиц 1 группы при развитии ДС оно повышалось по сравнению с исходным и с днем, предшествующим проявлениям синдрома, в среднем до 110 мкмоль/л (против 93 и 91 мкмоль/л соответственно;  $p < 0,05$ ).

Во время терапии инфекционные осложнения развились у 12 (80%) пациентов 1 группы и лишь у 5 (38,5%) – 2 группы. Летальный исход, связанный с развитием тяжелого ДВС-синдрома на фоне ДС, наступил у 4 (26,7%) больных первой группы. Во 2 группе летальных исходов не было.

Обобщая изложенное, следует отметить, что прогностическими критериями развития ДС при применении АТРА являются:

- фебрильная лихорадка при манифестации ОПЛ;
- выраженное снижение количества тромбоцитов до  $16 \times 10^9$ /л и менее, медленное их нарастание при проведении терапии;
- снижение уровня гемоглобина в динамике лечения весаноидом;
- прогрессивное увеличение содержания мочевины и креатинина в процессе терапии весаноидом;

- снижение индекса АПТВ в динамике;
- низкая концентрация фибриногена (менее 2,0 г/л) в дебюте заболевания и медленное ее нарастание в динамике терапии.

По развитию инфекционных осложнений на индукции ремиссии пациенты с развившимся ДС более угрожаемы, чем лица, у которых проявления данного синдрома отсутствовали.

На основе изложенных данных получен патент на изобретение №2461003 «Способ определения ранних факторов прогноза возникновения дифференцировочного синдрома при лечении больных острым промиелоцитарным лейкозом».

#### Список литературы

1. Зубаиров, Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования [Текст] / Д.М. Зубаиров. - Казань: «Фэн», 2000. – 364с.
2. Петров, М.Н. Геморрагический синдром при остром лейкозе [Текст] / М.Н.Петров, В.К. Вашкинель, О.А.Буева // Клинич. медицина.- 1984.- №7.- С.69-74.
3. Barbui, T. The Impact of All-trans-Retinoic Acid on the Coagulopathy of Acute Promyelocytic Leukemia [Text] / T. Barbui, G. Finazzi, A. Falanga // Blood.- 1998.-Vol.91, №9.- P.3093-3102.
4. Barbui, T. Disseminated Intravascular Coagulation in Acute Leukemia [Text]/ T.Barbui, A.Falanga // Seminars in Thrombosis and Hemostasis. – 2001. – Vol.27, №6. - P.593-604.
5. Chen, Y. Hemostatic abnormalities associated with acute promyelocytic leukemia and corrective effects of all-trans-retinoic acid or arsenic trioxide treatment [Text] / Y. Chen, W. Zhao, X. Wang et al. // Thrombosis and Haemostasis: Abstracts XVIII<sup>th</sup> Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Paris, July 2001.- 2001.- Abstract: CD3321.
6. Choudhry, A. Bleeding and thrombosis in acute promyelocytic leukemia [Text] / A. [Choudhry](#), [T.G.DeLoughery](#) // Am.J.Hematol. – 2012. - Vol.87, № 6. – P.596-603.
7. Falanga, A. Loss blast cell procoagulant activity and improvement of hemostatic variables in patients with acute promyelocytic leukemia given all-trans-retinoic acid [Text] / A.Falanga, L. Iacovello, V. Evangelista, et al. // Blood.- 1995.-Vol.86.- P.1072-1079.
8. Federici, A.B. The role of von Willebrand factor in the hemostatic defect of acute promyelocytic leukemia [Text] / A.B. Federici, E.A.D'Amico // Leuk. Lymphoma.- 1998.- Vol.31, №5-6.- P.491-499.
9. Higuchi, T. Coagulation patterns of disseminated intravascular coagulation in acute promyelocytic leukaemia [Text] / T. Higuchi, T. Shimizu, H. Mori, et al. // Hemat. Oncol.- 1997.-Vol.15, №4.- P.209-217.
10. Kwaan, H.C. Double Hazard of Thrombophilia and Bleeding in Leukemia [Text] / H.C.Kwaan // Hematology. – 2007. – №1. – P.151-158.
11. Luesink, M. Chemokine induction by all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia: triggering the differentiation syndrome

[Text] / M.Luesink, J.L.A.Pennings, W.M.Wissink et al. // Blood. – 2009. – Vol.114, № 27. – P. 5512-5521.

12. Matsuda, T. Clinical aspects of DIC-disseminated intravascular coagulation [Text] / T.Matsuda // Pol. J. Pharmacol.- 1996.- Vol.48, №1.- P.73-75.

13. Meijeers, J. Reduced activity of TAFI (Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor) in acute promyelocytic leukemia [Text] / J. Meijeers, E. Oudijk, L. Mosnier, et al. // Thrombosis and Haemostasis: Abstracts XVII<sup>th</sup> Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Washington.- August 1999.- P.221.

14. Menell, J.S. Annexin II and Bleeding in Acute Promyelocytic Leukemia [Text] / J.S.Menell, G.M. Cesarman, A.T. Jacovina, et al. // N.Engl.J.Med.- 1999.- Vol.340.- P.994-1004.

15. Montesinos, P. Differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-*trans* retinoic acid and anthracycline chemotherapy: characteristics, outcome, and prognostic factors [Text] / Montesinos P., Bergua J.M., Edo Vellenga E. et al. // Blood. – 2009. - Vol. 113, №4. - P. 775-783.

16. Oudijk, E.J. Elastase mediated fibrinolysis in acute promyelocytic leukemia [Text] / E.J.Oudijk, H.K.Nieuwenhuis, R.Bos, R.Fijnheer // Thromb. Haemost.- 2000.- Vol.83, №6.- P.906-908.

17. Sanz, M.A. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet [Text] / M.A.Sanz, D.Grimwade, M.S.Tallman et al. // Blood. – 2009. - Vol. 113, № 9. - P. 1875-1891.

18. de la Serna, J. Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-*trans* retinoic acid and idarubicin [Text] / J.de la Serna, P. Montesinos, E.Vellenga et al. // Blood. – 2008. – Vol. 111. – P.3395-3402.

19. Tallman, M.S. Curative strategies in acute promyelocytic leukemia [Text] / M.S. Tallman, J.K.Altman // Hematology. – 2008. – P.391-399.

20. Tallman, MS. The double hazard of thrombophilia and bleeding in acute promyelocytic leukemia [Text] / M.S.Tallman, S.A.Abutalib, J.K.Altman // Semin.Thromb.Hemost. – 2007. – Vol.33, №4. – P.330-338.

21. Zhao, W. Effects of all-*trans*-retinoic acid and arsenic trioxide on the hemostatic disturbance associated with acute promyelocytic leukemia [Text] / W. Zhao, H. Wang, X. Wang, et al. // Thromb. Res.- 2001.- Vol.102, №3.- P.197-204.