

Роль эналаприла в дифференциальной диагностике и лечении различных форм низкорениновой артериальной гипертензии

Ш.В. Ахадов, Г.Р. Рузбанова

Городская поликлиника № 81, Москва, Россия

Городская поликлиника № 154, Москва, Россия

Ахадов Ш.В. — к.м.н., врач-кардиолог Городской поликлиники № 81 и № 154 САО г. Москвы; Рузбанова Г.Р. — заместитель главного врача по лечебной работе Городской поликлиники № 81 САО г. Москвы.

Контактная информация: ул. Петрозаводская, д. 28, корп. 3, кв. 34, 125475 Москва, Россия. E-mail: Gala0608@rambler.ru (Рузбанова Галина Рахмаговна).

Резюме

Цель исследования — изучить действие эналаприла в монотерапии на артериальное давление (АД), ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), определить место применения препарата в дифференциальной диагностике различных форм низкорениновой артериальной гипертензии (НР АГ). **Материалы и методы.** В исследование было включено 190 больных с НР АГ, из них 144 больных имели низкорениновую эссенциальную АГ (НРЭАГ), 32 — первичный идиопатический гиперальдостеронизм (ПИГА), 14 пациентов по характеристике занимали промежуточное место между НРЭАГ и ПИГА. Возраст больных составил в среднем ($M \pm m$) 54 ± 10 лет, **систолическое АД в среднем** составило $199,6 \pm 6,6$ мм рт. ст., **диастолическое АД** — $111,4 \pm 5,4$ мм рт. ст. **Активность ренина плазмы (АРП)** и плазменная концентрация альдостерона (ПКА) были определены радиоиммунологическим методом в активном состоянии больных до начала и в конце четырехнедельного лечения эналаприлом 20 мг/сут. За норму АРП было принято 1,0–3,0 нг/мл/час, ПКА — 0,18–0,83 нмоль/л (5–23 нг/дл или 50–230 пг/мл), отношение ПКА, определенное в нг/дл, к АРП в нг/мл/час в норме составляло 5–23. **Выводы.** Тест с эналаприлом в дозе 20 мг/сут. позволяет выяснить ангиотензинзависимость АГ, (не)стимулированность ренина, характер изменений показателей РААС, что дает возможность дифференцировать различные формы НР АГ.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ренин, альдостерон, эналаприл.

Role of enalapril administration in differential diagnosis of low-renin hypertension

Sh.V. Akhadov, G.R. Ruzbanova

Clinical Hospital № 81, Moscow, Russia

Clinical Hospital № 154, Moscow, Russia

Corresponding author: 28–34 Petrozavodskaya st., 125475 Moscow, Russia. E-mail: Gala0608@rambler.ru (Ruzbanova Galina, Assistant Head Doctor at Clinical Hospital № 81).

Abstract

Objective. The paper addresses effects of enalapril and its role in low-renin hypertension (LRH). **Design and methods.** 190 patients (mean age 54 ± 10 years, mean systolic blood pressure (BP) was $199,6 \pm 6,6$ mmHg, diastolic BP — $111,4 \pm 5,4$ mmHg) with LRH were included: 144 of them with low-renin essential hypertension (EH), 32 with primary aldosteronism (PA), and 14 patients with intermidient status between EH and PA symptoms. Plasma renin activity (PRA) and plasma aldosterone were measured by radioimmune method at baseline and after 4-week treatment with enalapril 20 mg. PRA was considered normal if ranged 1,0–3,0 ng/ml/h, aldosterone — 0,18–0,83 nmol/l (5–23 ng/dl or 50–230 pg/ml). Normal PA/PRA ratio was considered as 5–23. **Conclusion.** Angiotensin-dependent hypertension, renin stimulation and changes in renin-angiotensin-aldosterone system activity can be assessed by test with 20 mg/day enalapril administration, that can help to differentiate EH and PA on low-renin status.

Key words: hypertension, renin, aldosterone, enalapril.

Статья поступила в редакцию: 27.08.09. и принята к печати: 29.08.09.

Введение

Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ) блокируют превращение ангиотензина-1, не-активного декапептида, в сильнодействующий пептид с

вазоконстрикторным действием — ангиотензин-2. Эти препараты являются эффективными антигипертензивными средствами, несмотря на тот факт, что у большинства пациентов с эссенциальной гипертензией (ЭГ) имеется

нормальный или пониженный уровень ренина. Это свидетельствует о том, что существуют и другие механизмы действия этой группы препаратов. ИАПФ, снижая концентрацию ангиотензина-2 в циркулирующей крови и тканях, уменьшают синтез альдостерона, вазопрессина, синтез катехоламинов в центральной нервной системе, надпочечниках, нервных окончаниях, а, подавляя кининазу-2, способствуют удлинению периода полураспада брадикинина и активации В2-брадикининовых рецепторов, образованию и высвобождению оксида азота и вазоактивных простагландинов. Существует мнение, что снижение уровня АПФ в плазме крови при длительном лечении имеет меньшее значение, чем ингибирование АПФ в различных органах и тканях, что является более важным в определении фармакологических эффектов этой группы препаратов. Эксперты Европейского общества кардиологов (ЕОК) подчеркивают отличия отдельных ИАПФ по силе связывания с АПФ в тканях и фармакологическим свойствам, что в значительной степени может определять различия их тканевых концентраций и клинических эффектов [1]. Именно эти особенности ИАПФ определяют их высокую антигипертензивную эффективность у больных низкорениновой АГ (НР АГ).

Как известно, имеется множество патологических состояний, которые сопровождаются низкой активностью ренина плазмы (АРП). К ним можно отнести такие как, низкорениновая эссенциальная артериальная гипертензия (НРЭГ) и первичный гиперальдостеронизм. Среди больных с первичным гиперальдостеронизмом частота аденомы надпочечников составляет по различным данным от 40 до 80 %, первичного идиопатического гиперальдостеронизма (ПИГА) — от 20 до 60 % [2, 3]. Они лечатся в основном, как и все больные с эссенциальной АГ, эмпирическим путем, что может привести к ухудшению клинической картины и прогноза заболевания, развитию резистентности к проводимой терапии. Поэтому в практической работе возникает необходимость выработки доступных и в то же время высокоинформативных методов их выявления с целью оптимизации антигипертензивной терапии. Для решения поставленной цели в данной работе нами были изучены сходства, различия и выраженность действия ИАПФ — эналаприла — на отдельные компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и уровень АД среди больных НР АГ.

Материалы и методы

В исследование было включено 190 больных НР АГ с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений, определенным согласно рекомендациям Европейского общества по АГ и Европейским обществом кардиологов 2007 года [1]. Возраст больных составил в среднем 54 ± 10 лет ($M \pm m$), мужчин — 67, женщин — 123, систолическое АД (САД) в среднем составило $199,6 \pm 6,6$ мм рт. ст., диастолическое АД (ДАД) — $111,4 \pm 5,4$ мм рт. ст. Из исследования были исключены больные с острым коронарным синдромом, острым инфарктом миокарда, развившимся менее чем за 3 мес. до включения в исследование, врожденными и приобретенными

пороками сердца, гипертрофической и рестриктивной кардиомиопатией, хроническим легочным сердцем, со сложными нарушениями ритма и проводимости, синдромом слабости синусового узла, хронической почечной недостаточностью, активными заболеваниями печени, сахарным диабетом и нарушением толерантности к глюкозе, симптоматической АГ.

Активность ренина плазмы (АРП) и плазменная концентрация альдостерона (ПКА) были определены радиоиммунологическим методом с использованием наборов «CJS» (Франция) в активном состоянии больных после 30 минут отдыха в положении сидя в 8–9 часов утра. За норму АРП было принято 1,0–3,0 нг/мл/час, ПКА — 0,18–0,83 нмоль/л (5–23 нг/дл или 50–230 пг/мл). Отношение плазменной концентрации альдостерона, определенное в нг/дл, к АРП в нг/мл/час в норме составляло 5–23. Суточная экскреция адреналина с мочой (СЭА) и суточная экскреция норадреналина с мочой (СЭНА) были определены флюорометрическим методом (норма для адреналина 18–33 ммоль/л, норадреналина — 150–256 ммоль/л).

На рисунке 1 показана последовательность проведенных исследований и распределение больных по ренин-альдостероновому профилю крови. После двухнедельного отмывочного периода, при котором трижды измерялось АД с определением его среднего уровня, всем больным с НР АГ назначался ИАПФ — эналаприл (препарат Renitec фирмы MERCK SHARP & DOHME, США) в дозе 10 мг 2 раза в день в течение 4-х недель. До лечения и в конце его определялись АРП и ПКА, СЭА, СЭНА, измерялось АД. В конце лечения по степени роста АРП были выделены 2 группы больных: 1-ю группу составили больные со стимулированным ренином ($n = 136$), критерием которого нами была определена нормализация АРП на фоне проводимой терапии, то есть повышение её более 1,0 нг/мл/час; вторую — больные с нестимулированным ренином ($n = 54$), критерием которого нами была определена невозможность достижения уровня АРП на фоне лечения свыше 1,0 нг/мл/час, то есть сохранение её менее или равной 1,0 нг/мл/час. Больные с нестимулированным ренином были выявлены в подгруппах с ПКА:АРП = 5–23 ($n = 8$) и ПКА:АРП > 50 ($n = 46$), им была проведена компьютерная томография (КТ) надпочечников. В результате у 40 больных была выявлена двусторонняя гиперплазия надпочечников (ГН), из них у 18 изменения были по типу диффузного увеличения размеров коры надпочечников, а у 22 — по типу узловой гиперплазии надпочечников. Все больные с гиперплазией корковых слоев надпочечников имели высокий исходный уровень ПКА:АРП, превышающий 50. На основании результатов лечения эналаприлом и КТ надпочечников были выделены 3 группы больных НР АГ: 1-я группа — больные с НРЭАГ ($n = 144$; из них 85 женщин, 59 мужчин), которые характеризовались стимулированным ренином, нормо- и гиперальдостеронизмом, разным исходным уровнем ПКА:АРП, отсутствием ГН; 2-я группа — больные с ПИГА: с нестимулированным ренином, гиперальдостеронизмом, исходным уровнем ПКА:АРП > 50 и с ГН ($n = 32$; из них 26 женщин, 6

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЕНИНА ПЛАЗМЫ, ПЛАЗМЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ АЛЬДОСТЕРОНА И ДИАСТОЛИЧЕСКОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ В КОНЦЕ ЧЕТЫРЕХНЕДЕЛЬНОГО КУРСА ЛЕЧЕНИЯ ЭНАЛАПРИЛОМ В ДОЗЕ 20 МГ/СУТ.

	ПКА (нг/дл) / АРП (нг/мл/час)	АРП < 0,22 нг/мл/час			АРП < 0,22-1,0 нг/мл/час		
		АРП	ПКА	ДАД	АРП	ПКА	ДАД
НРЭАГ (n = 28)	5-23	больные не выявлены			↑132,3**	↓27,1*	↓9,9*
НРЭАГ (n = 62)	23-50	↑1400**	↑65,3**	↓20,8**	↑457,6**	↓33,3**	↓20,3**
НРЭАГ (n = 54)	> 50	↑4775**	↑175,9**	↓37,9**	↑692,6**	↓23,6*	↓31,8**
Переходная форма НРАГ (n = 14)	> 50	↑500**	↑84,5**	↓20**	↑316,8**	↓26,8*	↓25,4**
ПИГА (n = 32)	> 50	↑60,4**	↓33,8**	↓14,2*	↑23,4*	↓44,8**	↓13,2*
	АРП	ПКА	ДАД				
ПИГА с повышением АРП (n = 20)	↑135**	↓27,2**	↓20,5**				
ПИГА со снижением АРП (n = 12)	↓51,2**	↓51,4**	↓6,9*				

Примечания: АРП — активность ренина плазмы; ПКА — плазменная концентрация альдостерона; ДАД — диастолическое артериальное давление; НРЭАГ — низкорениновая эссенциальная артериальная гипертензия; НРАГ — низкорениновая артериальная гипертензия; ПИГА — первичный идиопатический гиперальдостеронизм; * — $p < 0,05-0,01$; ** — $p < 0,01$.

мужчин); 3-я группа — больные с нестимулированным ренином, нормоальдостеронизмом, исходным отношением ПКА:АРП > 50 (n = 14: из них 12 женщин, 2 мужчин), у 8 была выявлена ГН.

После выделения форм НР АГ больные были распределены по исходному уровню АРП на 2 подгруппы (больные с АРП < 0,22 нг/мл/час и больные с АРП = 0,22–1,0 нг/мл/час) и по исходному уровню ПКА:АРП на 3 подгруппы (ПКА:АРП = 5–23; 23,1–50; > 50).

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерных программ, предусматривающих возможность как параметрического, так и непараметрического анализа. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Результаты в тексте представлены в виде $M \pm m$.

Результаты

В таблице 1 показаны результаты исследования действия эналаприла в дозе 20 мг/сут. на АРП, ПКА и ДАД в трех изучаемых группах больных. При применении эналаприла у больных НРЭАГ реактивное повышение АРП зависело обратно пропорционально от исходного уровня АРП и прямо пропорционально от исходного уровня ПКА:АРП, следовательно, высокое реактивное повышение АРП отмечалось у больных с наименьшей АРП и наибольшим уровнем отношения ПКА:АРП. Переход от НР АГ к гиперрениновой АГ был отмечен у 58,3 % больных, имеющих ПКА:АРП > 50. Анализ больных, распределенных по уровню АРП, выявил разницу в действии ИАПФ на ПКА: при уровне АРП $\geq 0,22$ нг/мл/час эналаприл в дозе 20 мг/сут., несмотря на выраженное реактивное повышение АРП, у всех больных снижал ПКА, а при уровне АРП < 0,22 нг/мл/час эналаприл в этой же дозе, вызывая чрезмерный рост АРП, повышал ПКА от 65,3 до 175,9 % ($p < 0,01$) по сравнению с исходным уровнем. Недостаточный антигипертензивный эффект (снижение ДАД менее чем на 10 мм рт. ст.) отмечался в подгруппе больных с АРП $\geq 0,22$ нг/мл/час

и ПКА:АРП = 5–23, где не было случаев нормализации АД. Начиная с уровня ПКА:АРП > 23, эналаприл в дозе 20 мг/сут. практически у всех больных нормализовал АД. Степень снижения АД прямо пропорционально зависела от степени повышения АРП.

Характер действия эналаприла у больных с ПИГА несколько отличался от больных НРЭАГ: во всех случаях было отмечено снижение ПКА независимо от исходного уровня АРП, и это снижение было достоверно больше, чем у больных НРЭАГ; у одной части больных было выявлено повышение АРП, как и у всех больных НРЭАГ, а у другой — парадоксальное ее снижение. У всех больных уровень АРП после лечения сохранялся ниже 1,0 нг/мл/час. В случае наличия реактивного повышения АРП препарат оптимально снижал АД (снижение ДАД на 20,5 %, $p < 0,01$), а у больных с парадоксальным снижением АРП, несмотря на выраженное снижение ПКА, антигипертензивный эффект оказался недостаточным (снижение ДАД составило 6,9 %, $p < 0,05$). В этой группе больных нормализации АД отмечено не было.

Третья группа больных по ответу на лечение эналаприлом имела сходства и различия как с больными НРЭАГ, так и ПИГА. Всем больным этой группы было характерно следующее: нестимулированный ренин (сходство с ПИГА), изменения ПКА аналогичного характера с больными НРЭАГ, отсутствие гиперальдостеронизма, исходное отношение ПКА:АРП > 50 (наблюдается среди больных НРЭАГ и у всех больных с ПИГА). По степени реактивного повышения АРП, антигипертензивной эффективности эта группа больных занимала среднее положение между НРЭАГ и ПИГА, поэтому нами была названа «переходной формой НР АГ». С прогрессированием НР АГ от НРЭАГ к «переходной форме НР АГ» и ПИГА действие препарата на АРП и АД снижалось, и, наоборот, усиливался его антиальдостероновый эффект.

ИАПФ только у больных с НРЭАГ с АРП < 0,22 нг/мл/час достоверно умеренно повышали синтез катехо-

аминов, у больных с $АРП \geq 0,22$ нг/мл/час независимо от формы НР АГ отмечалось снижение его. Это снижение было минимальным в группе больных НРЭАГ с $АРП \geq 0,22$ нг/мл/час (СЭА и СЭНА снизились до 14,1 %, $p < 0,05$), максимальным — в группе больных с ПИГА (СЭА снизилась до 79,4 %, $p < 0,01$, СЭНА снизилась до 71,9 %, $p < 0,01$), среднее положение занимали больные с «переходной формой НРАГ» — СЭА снизилась до 31,8 % ($p < 0,01$), СЭНА снизилась до 35,1 % ($p < 0,01$).

Обсуждение

В нашей работе для выявления нестимулированности ренина был выбран эналаприл в дозе 20 мг/сут., так как он является препаратом, имеющим среднюю степень связывания с тканевым и плазменным ангиотензин-превращающим ферментом [4] и обладающим быстрым и оптимальным антигипертензивным эффектом в указанной дозе. Поскольку ИАПФ в отличие от всех других антигипертензивных средств наиболее выражено повышают АРП путем снижения концентрации плазменного и тканевого ангиотензина-2 и повышения синтеза простагландинов, для выяснения степени стимулированности ренина они считаются более предпочтительными. По мнению N.M. Kaplan et al. (1976), имеется форма эссенциальной гипертензии, протекающая как первичный гиперальдостеронизм, с низкой, не стимулированной АРП, и частота этой формы АГ составляет 23–43 %. В нашей работе при применении эналаприла в дозе 20 мг/сут. отсутствие стимуляции ренина было выявлено среди больных НРЭАГ, имеющих ПКА:АРП = 5–23, где РААС в целом находится в нормальном физиологическом состоянии. В связи с этим ИАПФ не вызывал существенного повышения АРП, снижения АД и у больных с гиперплазией надпочечников.

При проведении лечения эналаприлом очень важным оказалось определение не только степени выраженности изменений показателей РААС, но и характера этих изменений (табл. 2), например, парадоксальное повышение ПКА и парадоксальное снижение АРП. Парадоксальное повышение ПКА у больных с НРЭАГ и «переходной формой НРАГ» можно объяснить следующим образом: у больных с $АРП < 0,22$ нг/мл/час, у которых имеется минимальная концентрация плазменного ангиотензина-2, эналаприл, несмотря на это, чрезмерно повышает АРП (в 9–70 раз и более) и реактивная гиперренинемия приводит к существенному росту ангиотензина-1. Последний в свою очередь способствует компенсаторному и адекватному повышению АПФ. На наш взгляд, в этих условиях ИАПФ блокируют малую часть повышенного АПФ. Оставшаяся часть АПФ, не связанная с лекарством, приводит к увеличению концентрации циркулирующего ангиотензина-2, в результате чего увеличивается синтез альдостерона в корковых слоях надпочечников («ускользание антиальдостеронового эффекта ИАПФ»). Несмотря на повышение ПКА, циркулирующего ангиотензина-2 и тенденцию к росту синтеза катехоламинов при применении эналаприла в этих подгруппах больных, причины выраженного повышения АРП и снижения АД можно связывать со снижением тканевого ангиотензина-2.

Поэтому в данной группе больных применение ИАПФ мы считаем необходимым, однако применяемые дозы препарата не должны приводить к переходу к гиперрениновому профилю крови, в случае же такого перехода целесообразно добавление к терапии бета-адреноблокаторов — препаратов, снижающих синтез ренина в юктагломерулярном (ЮГА) аппарате почек. Парадоксальное снижение АРП было характерно только больным с ПИГА, это сопровождалось более выраженным снижением синтеза катехоламинов в отличие от других групп НР АГ. В целом все больные с гиперплазией надпочечников, в отличие от больных с НРЭАГ, характеризуются менее выраженным повышением АРП при применении эналаприла. Это, вероятно, связано с морфофункциональным ремоделированием ЮГА почек в результате апоптоза или потери части функционирующих клеток. Одним из объяснений этого факта может быть наличие артериолонефросклероза, характерное больным ПИГА [5], а также системного артериолосклероза, которые создают резистентность к антигипертензивной терапии. Степень выраженности артериолонефросклероза и системного артериолосклероза проявляется отсутствием стимуляции АРП или парадоксальным снижением АРП, низкой антигипертензивной эффективностью эналаприла. У больных с «переходной формой НР АГ» и ПИГА эналаприл не способен нормализовать подавленный синтез ренина в ЮГА почек, а при этом, наоборот, усиливается его действие на корковые слои надпочечников при сравнении с больными НРЭАГ.

Для выявления ПИГА важны не столько абсолютные значения ПКА и АРП, сколько отношение ПКА:АРП. Ранее считалось, что диагноз «первичный гиперальдостеронизм» подтверждается, если ПКА (нг/дл):АРП (нг/мл/час) выше 50; если это отношение находится в пределах 25–50, проводят функциональные и нагрузочные пробы [6–8]. В нашей работе эналаприл в дозе 20 мг/сут. у всех больных с ПКА:АРП = 23–50 вызвал повышение АРП выше 1,0 нг/мл/час и нормализацию АД, то есть в этой группе больных не было выявлено случаев отсутствия стимуляции ренина, характерное больным с гиперплазией корковых слоев надпочечников. Если отношение ПКА:АРП окажется более 50, целесообразно проведение медикаментозного теста с эналаприлом в дозе 20 мг/сут. для выяснения ангиотензинзависимости АГ и характера изменений показателей РААС. Выявление ангиотензинзависимости АГ очень важно, поскольку оно будет способствовать новым поискам эффективной медикаментозной блокады РААС. Для окончательного уточнения характера повреждения корковых слоев потребуются визуализирующие методы исследования надпочечников.

Выводы

1. Лечение эналаприлом в дозе 20 мг/сут. можно считать тестовым, так как оно позволяет выяснить ангиотензинзависимость артериальной гипертензии, отсутствие стимуляции ренина, провести дифференциальную диагностику различных форм НР АГ и определить дальнейшую тактику введения больных.

2. Выявлены 3 эволюционные стадии НР АГ: 1-я стадия — НРЭАГ без гиперплазии надпочечников, со стимулированным ренином, 2-я стадия — «переходная форма» НР АГ с или без гиперплазии надпочечников, нормальдостеронизмом, не стимулированным ренином, 3-я стадия — ПИГА с гиперплазией надпочечников, гиперальдостеронизмом, не стимулированным ренином или парадоксальным снижением синтеза ренина при применении ИАПФ. С прогрессированием НР АГ действие эналаприла на АРП и АД снижается, и, наоборот, усиливается его антиальдостероновый и симпатолитический эффекты.

Литература

1. The Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension and of the European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension // *J. Hypertens.* — 2007. — Vol. 25. — P. 1105–1187.
2. Ветшев П.С., Ипполитов Л.И., Соловьева Н.А. и др. Диагностика и хирургическое лечение первичного гиперальдостеронизма // *Хирургия.* — 2002. — Т. 9. — С. 7–16.
3. Gordon R.D, Stowasser M., Rutherford J.C. Primary aldosteronism: are we diagnosing and operating on too few patients? // *World J. Surg.* — 2001. — Vol. 25. — P. 941–947.
4. Johnston Cl., Mendelsohn F.A.O., Cubela R.B. et al. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) in plasma and tissues: studies ex vivo after administration of ACE inhibitors // *J. Hypertens.* — 1988. — Vol. 6 (suppl. 3). — P. S17–S22.
5. Шхвацабая И.К., Чихладзе Н.М. Гиперальдостеронизм и артериальная гипертензия. Диагностика и лечение. — М.: Медицина, 1984. — С. 5–15.
6. Mosso L., Fardella C., Montero J. **High prevalence of undiagnosed primary hyperaldosteronism among patients with essential hypertension** // *Rev. Med. Chil.* — 1999. — Vol. 127. — P. 800–806.
7. Nishikawa T., Omura M. Clinical characteristics of primary aldosteronism: its prevalence and comparative studies on various causes of primary aldosteronism in Yokohama Rosai Hospital // *Biomed. Pharmacother.* — 2000. — Vol. 54. — P. 83s–85s.
8. Rayner B.L, Opie L.H, Davidson J.S. The aldosterone/rennin ratio as a screening test for primary aldosteronism // *S. Afr. Med. J.* — 2000. — Vol. 90. — P. 394–400.