© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013 УДК 616.858-07:616.154+616.832.9-008.8

УРОВЕНЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

И.В. Милюхина¹, М.Н. Карпенко^{1,3}, А.А. Тимофеева², В.М. Клименко¹, А.А. Скоромец²

 1 ФГБУ «НИИ Экспериментальной медицины» СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург; 2 ГБОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург; 3 ФГБОУ ВПО «СПбГПУ», 195251, Санкт-Петербург

Целью настоящего исследования было выявить связь выраженности симптомов болезни Паркинсона (БП) с уровнем основного противовоспалительного цитокина — интерлейкина-10 (ИЛ-10) — в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости пациентов с учетом применяемой терапии леводопой. У пациентов с выраженным акинетико-ригидным синдромом нами было обнаружено снижение уровня ИЛ-10 по сравнению с пациентами с дрожательным фенотипом БП. Отмечается положительная корреляция содержания ИЛ-10 с уровнями тревоги и депрессии (R=0,4; p=0,01), что свидетельствует о вовлечении ИЛ-10 в патофизиологию аффективных нарушений. У пациентов, получающих препараты леводопы, уровень ИЛ-10 был выше, чем у пациентов без леводопотерапии (p=0,04). Вероятно, у препаратов леводопы, кроме симптоматического действия, присутствует дозозависимый иммуномодулирующий эффект. В связи с этим, нейроиммунологические изменения, имеющие место при БП, могут, хотя бы частично, быть вызваны применением леводопы.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, нейровоспаление, интерлейкин-10, препараты леводопы, депрессия.

THE LEVEL OF INTERLEUKIN-10 IN SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

I.V. Milyukhina¹, M.N. Karpenko^{1,3}, A.A. Timofeeva², V.M. Klimenko¹, A.A. Skorometz²

¹Pavlov Department of Physiology, Institute of Experimental Medicine of the North West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, Russia; ²Department of Neurology, Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia; ³ Department of Biophysics St. Petersburg State Polytechnical University; St. Petersburg, Russia.

The purpose of the study was to detect the relation between severity of Parkinson's disease symptoms and the level of basic anti-inflammatory cytokine – Interleukin -10 (IL-10) in serum and cerebrospinal fluid with levodopa therapy taken into account. In patients with severe rigid-akinetic syndrome we detected the decrease of IL-10 level in comparison with patients with shaking form of PD. We revealed positive correlation between the level of Il-10 and severity of anxiety and depression (R=0,4; p=0,01), this factor proves the participation of IL-10 in the pathophysiology of affective disorders. In patients treated with levodopa the level of Il-10 is higher than in patient without levodopa (p=0,04). Perhaps levodopa medicines have both symptomatic and dosage-dependent immunomodulative effect. In view of this factor neuroimmunologic changes in PD could be explained by levodopa treatment.

K e y w o r d s: Parkinson's disease, neuroinflammation, Interleukin-10, levodopa medicines, depression.

Нейровоспаление выявляется практически при всех заболеваниях центральной нервной системы (ЦНС), в том числе при нейродегенеративных и психических болезнях [1, 2]. Нейровоспаление также рассматривается в качестве одного из основных

Сведения об авторах:

Милюхина Ирина Валентиновна — врач-невролог I неврологического отделения клиники ФГБУ «НИИ Экспериментальной медицины» СЗО РАМН, аспирант Физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН

Карпенко Марина Николаевна — канд. биол. наук, научн. сотр. физиологического отдела им. И.П. Павлова ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН

Тимофеева Алла Аркадьевна — канд.мед.наук, доц. каф. неврологии и нейрохирургии ГБОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова

Клименко Виктор Матвеевич — проф., д-р мед. наук, зав. физиологическим отделом им. И.П. Павлова ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН

Скоромец Александр Анисимович — засл. деятель науки РФ, академик РАМН, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии ГБОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова.

звеньев патогенеза болезни Паркинсона (БП) [3, 4]. В ходе воспалительного процесса в ЦНС глиальными клетками высвобождаются провоспалительные медиаторы, хемокины и цитокины, активные формы кислорода, что, в конечном итоге, приводит к нейродегенерации. Однако действие нейровоспаления не ограничивается только повреждающим эффектом, поскольку глиальные клетки (в первую очередь микроглия) также способны продуцировать противовоспалительные цитокины и факторы роста, прямо или опосредованно усиливающие пролиферацию, дифференциацию и миграцию клеточных предшественников. По-видимому, результирующий эффект нейровоспаления (нейродеструктивный или адаптивный) зависит от соотношения в ЦНС про- или противовоспалительных агентов.

ИЛ-10 — противовоспалительный цитокин, который продуцируется Th2-клетками и подавляет продукцию провоспалительных цитокинов [5]. Нейропротекторная роль ИЛ-10 показана в экспериментальных исследованиях на липополисахаридиндуцированной модели паркинсонизма [6]. В еди-

ничных клинических исследованиях обнаружено повышение ИЛ-10 в крови пациентов с БП, однако связь уровня ИЛ-10 с клиническими проявлениями заболевания практически не анализируется. В связи с этим целью представляемого исследования было выявить связь выраженности симптомов БП с уровнем ИЛ-10 в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) пациентов с учетом применяемой терапии леводопой.

Пациенты и методы исследования

Обследовано 87 пациентов с БП — 47 (54%) женщин и 40 (46%) мужчин, размах выборки по возрасту был от 43 до 82 лет, медиана составила 65 (57; 73) лет. Критерии включения в исследование: наличие БП в стадии заболевания с 1,0 по 4,0 по шкале Хен и Яра [7]; информированное согласие на участие в исследовании. Пациенты исключались из исследования при наличии заболевания, которое могло повлиять на оценку выраженности симптомов БП и общий прогноз, выраженной патологии органов зрения и слуха, когнитивных расстройствах, препятствующих проведению исследования. тяжелой депрессии, требующей наблюдения психиатра, инфекционных, воспалительных заболеваний, злокачественных новообразований, хирургической патологии. Контрольную группу составили 20 клинически здоровых добровольцев, соотносимых по полу и возрасту с основной группой: 10 мужчин и 10 женщин в возрасте от 50 до 78 лет; 65 (58; 71) лет. Диагноз БП устанавливался в соответствии с критериями Банка головного мозга Общества БП Великобритании [8], стадия — с классификацией Хен и Яра. Продолжительность заболевания колебалась от 2 до 16 лет. Большинство пациентов имели смешанную форму БП (67,8%), но по преобладающему компоненту нами были выделены две подгруппы: тремор-доминантная (ТД) — 41 (47%) пациент, и акинетико-ригидно-доминантная (АРД) — 46 (53%) больных БП. Леводопотерапию получали 69 (79,3%) пациентов, которых разделили на две группы: 1-ю — получающие начальную дозу леводопы (до 375 мг/сут); 2-ю — получающие стандартную поддерживающую дозу леводопы (от 400 до 1075 мг/сут). Длительность приема леводопы варьировала от 4 мес до 12 лет.

Клиническое исследование проводилось с объективизацией имеющихся нарушений с помощью шкал: 1) двигательные нарушения: шкала Хен и Яра; ІІІ часть УШОБП [9]; 2) нарушения повседневной активности: ІІ часть УШОБП; 3) осложнения лечения: ІV часть УШОБП; 4) когнитивные функции: шкала «Краткая оценка психического статуса» (КШОПС) [10], тест «рисования часов» [11]; 5) аффективные нарушения: Госпитальная шкала тревоги и депрессии (ГШТД) [12].

У всех пациентов и группы контроля был осуществлен забор крови, 13 (10 мужчин, 3 женщины) пациентам была проведена диагностическая поясничная пункция, и получена ЦСЖ. Содержание ИЛ-10 в сыворотке крови и ЦСЖ определялось ме-

тодом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью специфической тест-системы на основе соответствующих моноклональных антител, разработанной ООО «Цитокин». Оптическую плотность измеряли на анализаторе «ALISA».

Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета компьютерных прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft, 2008). Оцениваемые признаки охарактеризовались медианой, верхней и нижней квартилью. При сравнении двух независимых групп использовался критерий Манна–Уитни, трех и более групп – критерий Кроскала–Уолиса, медианный тест; при анализе статистических зависимостей вычислялся коэффициент корреляции Спирмена. Значимыми считались различия при $p \le 0,05$.

Результаты

Концентрация ИЛ-10 в сыворотке крови больных колебалась от 2,0 до 29,0 пг/мл. Медиана концентрации ИЛ-10 у больных 5,9 (4,8—7,9) пг/мл не отличалась (p=0,3) от группы контроля 6,5 (5,5—12,3) пг/мл. Не было выявлено гендерных различий по уровню ИЛ-10, а также связи концентрации ИЛ-10 с возрастом пациентов, стадией БП, длительностью, тяжестью и возрастом начала болезни, латерализацией моторного дефицита. Однако оказалось, что содержание ИЛ-10 в сыворотке крови у пациентов с разными клиническими вариантами БП отличается: у больных группы АРД уровень ИЛ-10 был ниже (5,3 (3,6—6,4) пг/мл), чем у больных с преобладанием в клинической картине дрожательного синдрома — (6,4 (5,5-8,1) пг/мл); р=0,03. В целом пациенты группы АРД имели более позднюю стадию заболевания — 2,5 (2,0-3,0), чем в группе ТД — 1,5 (1,0-2,5), p=0,004. Также выявлены различия среди этих групп по выраженности клинического дефицита по УШОБП, достигшие наибольшего значения по III подшкале УШОБП: у группы АРД медиана составила 37 (26-46) баллов, у группы ТД значительно меньше — 27 (14—40) баллов, p=0.009. Суммарная оценка по УШОБП у 1-й группы оказалась 47 (38—68) баллов, у 2-й группы — 37 (19—56) баллов, p=0.004. При оценке тяжести немоторных симптомов отмечалась положительная корреляционная зависимость только между уровнем ИЛ-10 и выраженностью тревоги и депрессии по ГШТД (R=0,4 по обеим подшкалам), p=0,01. При этом не обнаружено разницы между группами ТД и АРД: 9 (4—9) и 8 (7—9) баллов по ГШТД соответственно. Не обнаружено зависимости между суммой баллов КШОПС, теста рисования часов и уровнем ИЛ-10.

Для оценки влияния леводопотерапии на содержание ИЛ-10 в сыворотке крови пациентов с БП было проведено сравнение уровня ИЛ-10 у 3 групп: у не получавших леводопу (n=18) концентрация ИЛ-10 была 6,0 (3,8–7,1) пг/мл; у получавших низкие дозы препарата (n=41), — 5,7 (4,4—6,3) пг/мл; высокие дозы (n=28) — 7,9 (5,4—19,4). Оказалось, что у пациентов последней группы уровень ИЛ-10

был выше, чем у пациентов без леводопатерапии, p=0.04.

Концентрация ИЛ-10 в ЦСЖ больных колебалась от 2,6 до 7,7 пг/мл, медиана концентрации ИЛ-10 составила 7,0 (6,7—7,6) пг/мл. При анализе тех же показателей, что и в сыворотке крови, различий выявлено не было. Обращает на себя внимание, что у пациента К. с ранним началом БП и не получающим леводопатерапию, уровень ИЛ-10 в ЦСЖ составил 2,6 пг/мл, что в 2,7 раза ниже медианного значения.

Обсуждение

Исследование показателей цитокинового профиля при БП идет уже почти 10 лет, однако данные об уровне ИЛ-10 в крови при данной патологии скудны и весьма противоречивы, а содержанию ИЛ-10 в ЦСЖ посвящены в лучшем случае единичные работы. При этом авторами не учитывалось влияние противопаркинсонических препаратов [13]. Малое количество исследований, посвященных изучению уровня ИЛ-10 при БП, вызывает удивление, так как этот показатель может стать новой терапевтической мишенью. Согласно полученным нами данным, уровень ИЛ-10 в крови пациентов группы ТД выше, чем в группе АРД, что согласуется с данными M. Rentzos и соавт. (2009) [13]. В сходном исследовании они также показали, что уровень ИЛ-10 при дрожательной форме БП в 1,5 раза выше, чем при акинетико-ригидной. Вероятно, более выраженное повышение ИЛ-10 в сыворотке крови при преобладании дрожательного клинического варианта БП связано с различными иммунопатогенетическими механизмами, вовлеченными в развитие разных подтипов БП. Известно, что различные клинические фенотипы БП имеют патоморфологические, эпидемиологические отличия [14, 15]. Учитывая, что тяжесть и стадия БП (по Хен и Яру и УШОБП) в группе с преобладанием акинетико-ригидного компонента выше, можно было ожидать, что в этой группе пациентов также будет обнаружено преобладание тех или иных немоторных проявлений. По выраженности когнитивного дефицита мы выявили различия при сравнении суммарного количества баллов шкалы КШОПС в группах ТД и АРД, p=0.05. Однако по уровню депрессии и тревоги различий между описанными выше группами не обнаружено, что может указывать на наличие единого механизма развития аффективных нарушений при БП, который не зависит от клинической формы БП.

Известно, что наряду с нейромедиаторными нарушениями в патогенезе депрессии, не связанной с нейродегенеративными заболеваниями, так же, как и в патогенезе депрессии при БП, играют роль механизмы воспаления [16, 17]. Результаты исследований взаимосвязи между депрессивными нарушениями и продукцией ИЛ-10 противоречивы: есть данные о повышении уровня последнего на фоне депрессии [18], неизменности [19] и уменьшении [20], колебании уровня в зависимости от подтипа депрессии [21]. Таким образом, вовлечение цито-

кинов в патофизиологию аффективных нарушений несомненно, но непосредственные механизмы и вектор влияния до сих пор неизвестны. Результаты нашего исследования показывают, что уровень ИЛ-10 имеет положительную корреляционную связь только с выраженностью эмоционально-аффективных нарушений. Это, по-видимому, означает, что уровень ИЛ-10 весьма чувствительный и специфический диагностический маркер. Депрессия и тревога оказывают значимое негативное влияние на качество жизни пациентов и их близких, вне зависимости от степени тяжести двигательных симптомов БП. Однако данные расстройства часто диагностируются с опозданием, что лишает пациентов адекватной терапии [22]. Определение уровня ИЛ-10 в крови совместно с другими биохимическими показателями может быть полезно для прогнозирования развития у пациентов депрессивных и тревожных нарушений уже на начальных стадиях БП.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. *Glass C.K.*, *Saijo K.*, *Winner B.*, *Marchetto M.C.*, *Gage F.H.* Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. Cell. 2010; 19; 140 (6): 918—34.
- Lucas S.M., Rothwell N.J., Gibson R.M. The role of inflammation in CNS injury and disease. Br. J. Pharmacol. 2006; 147 (Suppl. 1): S232—40.
- 3. Mosley R.L., Hutter-Saunders J.A., Stone D.K. Inflammation and adaptive immunity in Parkinson's disease. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2012; 2(1): 81—93.
- 4. *Милюхина И.В., Карпенко М.Н., Тимофеева А.А., Клименко В.М., Скоромец А.А.* Роль воспаления в патогенезе болезни Паркинсона. Неврол. журн. 2013; 18(3): 51—5.
- 5. Chen C.C., Manning A.M. Cytokine. 1996; 8(1): 58—65.
- Arimoto T., Choi D. Y., Lu X., Liu M., Nguyen X.V., Zheng N. et al. Interleukin-10 protects against inflammation-mediated degeneration of dopaminergic neurons in substantia nigra. Neurobiol. Aging. 2007; 28 (6): 894—906.
- 7. Hoehn M., Jahr M.D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. Neurology. 1967; 17(5): 427—42.
- 8. *Gibb W., Lees A.* The relevance of lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1988; 51: 745—52.
- 9. Fahn S., Elton R. Unified Parkinson's disease rating scale. Recent developments in Parkinson's disease. McMillan Healthcare Inform. 1987; 5: 153—63.
- Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R. Mini-mental status. J. Psychiatr. Res. 1975; 12: 189—96.
- 11. *Manos P.J., Wu R.* The ten point clock test: a quick screen and grading method for cognitive impairment in medical and surgical patients. Int. J. Psychiatry Med. 1994; 24 (3):229—44.
- 12. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale. Acta Psychiatr. Scand. 1983; 67: 361—70.
- Rentzos M., Nikolaou C., Andreadou E., Paraskevas G.P., Rombos A., Zoga M. et al. Circulating interleukin-10 and interleukin-12 in Parkinson's disease. Acta Neurol. Scand. 2009; 119: 332—7.
- 14. Залялова З.А. Дрожательные фенотипы болезни Паркинсона. Руководство для врачей. В кн.: Иллариошкин С.Н., Левина О.С., ред. По материалам II Национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движений. М.: НЦН РАМН; 2011: 55—9.
- 15. Van Rooden S.M., Heiser W.J., Kok J.N., Verbaan D., van Hilten J.J., Marinus J. The identification of Parkinson's disease subtypes using cluster analysis: a systematic review. Movement Disord. 2010; 25(8): 969—78.

- Raison C.L., Capuron L., Miller A.H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. Trends Immunol. 2006; 27 (1): 24—31.
- Miller A.H., Maletic V., Raison C.L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. Biol. Psychiatry. 2009; 65 (9): 732—41.
- Kubera M., Kenis G., Bosmans E., Zieba A., Dudek D., Nowak G., Maes M. Plasma levels of interleukin-6, interleukin-10, and interleukin-1 receptor antagonist in depression: comparison between the acute state and after remission. Pol. J. Pharmacol. 2000; 52 (3): 237—41.
- 19. *Huang T., Chien-Te L.* T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical phenotypes of acute-phase major depression. Psychiatry Clin. Neurosci. 2007, 61: 415—20.
- Parissis J.T., Adamopoulos S., Rigas A., Kostakis G., Karatzas D., Venetsanou K. et. al. Comparison of circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with chronic heart failure with versus without symptoms of depression. Am. J. Cardiol. 2004; 94 (10): 1326—8.
- 21. Rothermundt M., Arolt V., Peters M., Gutbrodt H., Fenker J., Kersting A. et al. Inflammatory markers in major depression and melancholia. J. Affect. Disord. 2001; 63 (1—3): 93—102.
- 22. *Левин О.С.* Психические расстройства при болезни Паркинсона и их коррекция. В кн.: Шток В.Н., ред. Экстрапирамидные расстройства. Руководство по диагностике и лечению. М.: Медпресс-информ; 2002: 125—51.

REFERENCES

- Glass C.K., Saijo K., Winner B., Marchetto M.C., Gage F.H. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. Cell. 2010; 19; 140 (6): 918—34.
- Lucas S.M., Rothwell N.J., Gibson R.M. The role of inflammation in CNS injury and disease. Br. J. Pharmacol. 2006; 147 (Suppl. 1): S232—40.
- 3. *Mosley R.L., Hutter-Saunders J.A., Stone D.K.* Inflammation and adaptive immunity in Parkinson's disease. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2012; 2(1): 81—93.
- 4. Milyukhina I.V., Karpenko M.N., Timofeeva A.A., Klimenko V.M., Skoromec A.A. The role of inflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. Nevrologicheskij zhurnal, 2013; 18(3): 51—5 (in Russian).
- 5. Chen C.C., Manning A.M. Cytokine. 1996; 8; 1: 58—65.
- Arimoto T., Choi D. Y., Lu X., Liu M., Nguyen X.V., Zheng N. et al. Interleukin-10 protects against inflammation-mediated degeneration of dopaminergic neurons in substantia nigra. Neurobiol. Aging. 2007; 28(6): 894—906.
- 7. Hoehn M., Jahr M.D. Parkinsonism: onset, progression and mortality. Neurology. 1967; 17(5): 427—42.
- 8. Gibb W., Lees A. The relevance of lewy body to the pathogen-

- esis of idiopathic Parkinson's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1988; 51: 745—52.
- Fahn S., Elton R. Unified Parkinson's disease rating scale. Recent developments in Parkinson's disease. McMillan Healthcare Inform. 1987; 5: 153—63.
- Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R. Mini-mental status.
 J. Psychiatr. Res. 1975; 12: 189—96.
- Manos P.J., Wu R. The ten point clock test: a quick screen and grading method for cognitive impairment in medical and surgical patients. Int. J. Psychiatry Med. 1994; 24 (3): 229—44.
- 12. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale. Acta Psychiatr. Scand. 1983; 67: 361—70.
- Rentzos M., Nikolaou C., Andreadou E., Paraskevas G.P., Rombos A., Zoga M. et al. Circulating interleukin-10 and interleukin-12 in Parkinson's disease. Acta Neurol. Scand. 2009; 119: 332—7.
- 14. Zaljalova Z.A. Tremor phenotypes of Parkinson's disease. In: Guide for physicians: II National Congress of Parkinson's disease and movement disorders, Moscow, 2011: 55-059 (in Russian).
- Van Rooden S.M., Heiser W.J., Kok J.N., Verbaan D., van Hilten J.J., Marinus J. The identification of Parkinson's disease subtypes using cluster analysis: a systematic review. Movement Disord. 2010; 25(8): 969—78.
- Raison C.L., Capuron L., Miller A.H. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. Trends Immunol. 2006; 27 (1): 24—31.
- Miller A.H., Maletic V., Raison C.L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. Biol. Psychiatry. 2009; 65 (9): 732—41.
- Kubera M., Kenis G., Bosmans E., Zieba A., Dudek D., Nowak G., Maes M. Plasma levels of interleukin-6, interleukin-10, and interleukin-1 receptor antagonist in depression: comparison between the acute state and after remission. Pol. J. Pharmacol. 2000: 52 (3): 237—41.
- Huang T., Chien-Te L. T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical phenotypes of acute-phase major depression. Psychiatry Clin. Neurosci. 2007, 61: 415—20.
- 20. Parissis J.T., Adamopoulos S., Rigas A., Kostakis G., Karatzas D., Venetsanou K. et. al. Comparison of circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with chronic heart failure with versus without symptoms of depression. Am. J. Cardiol. 2004; 94 (10): 1326—8.
- 21. Rothermundt M., Arolt V., Peters M., Gutbrodt H., Fenker J., Kersting A. et al. Inflammatory markers in major depression and melancholia. J. Affect. Disord. 2001; 63 (1—3): 93—102.
- 22. Levin O.S. Psychiatric symptoms in Parkinson's disease and their correction. In: Extrapyramidal disorder. Guide to diagnosis and treatment. Ed. Shtok V.N., Moscow; Medpress-inform, 2002: 125—51 (in Russian).