

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕСТЕНОЗА ПОСЛЕ КОРОНАРНОГО СТЕНТИРОВАНИЯ ПРИ ИБС

А. И. Проскуряков, С. П. МIRONENKO, А. Г. ОСИЕВ

ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России (г. Новосибирск)

В статье представлен аналитический обзор литературных данных о роли локального и системного воспаления в развитии рестеноза у больных ишемической болезнью сердца после коронарного стентирования.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, коронарное стентирование, воспаление, цитокины.

Проскуряков Александр Иванович — аспирант заочного отделения по специальности «кардиология» ФГБУ «ННИИПК им. академика Е.Н. Мешалкина», e-mail: Londrien_rus@mail.ru

МIRONENKO Светлана Павловна — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник центра эндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБУ «ННИИПК им. академика Е.Н. Мешалкина», рабочий телефон: 8: (383) 332-24-37, e-mail: mail@meshalkinclinic.ru

ОСИЕВ Александр Григорьевич — доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра эндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБУ «ННИИПК им. академика Е.Н. Мешалкина», рабочий телефон: 8: (383) 332-24-37, e-mail: mail@meshalkinclinic.ru

Широкое внедрение за последние десятилетия эндоваскулярных методов реваскуляризации миокарда при стенозирующем коронарном атеросклерозе позволило существенно улучшить результаты лечения при ишемической болезни сердца (ИБС). Однако главным осложнением, ограничивающим клиническую эффективность чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ), является высокая частота развития рестеноза (РС), достигающая 30–42 %. Это приводит к возобновлению симптомов заболевания. Выявление прогностически неблагоприятных ангиографических характеристик требует индивидуального подхода как при подготовке, так и при выполнении ЧКВ [2]. Способность предсказать вероятность РС была бы в высшей степени полезной как для выявления регулируемых факторов риска (ФР), так и для отбора

пациентов к проведению интервенционных вмешательств. Развитие РС отличается от формирования первичного поражения коронарного русла и происходит иным путем. Атеросклеротический процесс обычно развивается в течение нескольких лет и даже десятков лет, тогда как РС формируется в течение первых шести месяцев после успешного коронарного стентирования.

В настоящее время распространено мнение, что развитие РС в сегменте стентированной коронарной артерии (КА) является локализованной воспалительной реакцией. Процессы взаимодействия металлического каркаса стента с тканями сосудистой стенки и элементами кровотока были тщательно изучены отечественными исследователями под руководством Л. С. Кокова [1]. Повреждение интимы при коронарном стентировании приводит к различной степени элиминации эндотелия, обнажению тромбогенного субэндотелия, раннему формированию тромба и острой воспалительной реакции, сопровождаемой неоинтимальным ростом. Иммуногистохимическое исследование области рестенотического поражения подтверждает наличие воспалительной реакции в КА на имплантированный стент [14].

Сразу после стентирования начинается взаимодействие между клетками крови, сосудистой стенкой и корпусом стента. Первая реакция крови состоит в отложении на поверхности стента тромбоцитов и белков плазмы. Спустя 10–15 мин после формирования рыхлого тромбоцитарного агрегата на поверхности поврежденного эндотелия и стента происходит миграция макрофагов и лейкоцитов из циркулирующей крови. Внедрившиеся лейкоциты, тромбоциты и коронарный эндотелий, поврежденный стентом, претерпевают функциональные изменения, проявляющиеся значительным увеличением экспрессии различных лигандов на клеточной поверхности. Инвазии моноцитов, активации тромбоцитов и их агрегации способствуют многочисленные молекулы адгезии и хемоаттрактанты, в частности MCP-1, повышенная концентрация которого наблюдается при формирующемся РС [7], CD40L и его растворимого фрагмента sCD40L, подавляющих реэндотелизацию внутреннего слоя КА, поврежденного коронарной ангиопластикой и предрасполагающих к формированию РС [5].

Комплекс механизмов, приводящий к РС в стенте, может быть разделен на раннюю (дни и недели) и позднюю (недели и месяцы) фазы. Начиная с ранней фазы, макрофаги вторгаются в формирующуюся неоинтиму и группируются вокруг каркаса стента, формируя гигантские клетки. Блокада ранней активации моноцитов противовоспалительными средствами приводит к снижению позднего неоинтимального утолщения [12]. В экспериментальных исследованиях реактивные воспалительные инфильтраты, содержащие моноциты, лимфоциты, эозинофилы и гистиоциты были обнаружены не только на стентированной поверхности, но и по всей толщине стенки КА вплоть до адвентициального слоя. Такие клеточные изменения наблюдаются через 15 мин после имплантации стента и сохраняются, по меньшей мере, в пределах 56-ти дней после вмешательства [6].

Rogers с соавторами демонстрировали линейные отношения между содержанием моноцитов в ткани и в области неоинтимы, отводя моноцитам причинную роль в РС [16]. Было также отмечено, что повреждение стенки КА, глубокое проникновение стента в медию, разрыв бляшки с проникновением структуры стента в ядро бляшки увеличивают риск воспалительной реакции, рост неоинтимы и риск РС стента [9]. Fukuda с соавторами (2004) исследовали количество циркулирующих моноцитов на основании проб периферической крови, взятых непосредственно перед имплантацией стента и ежедневно в течение семи дней после вмешательства у 107-ми пациентов.

Всем пациентам проводилась коронарография (КГ) и внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ) спустя 6 месяцев. Они определили, что количество циркулирующих моноцитов увеличивалось и достигало пика через 2 дня после имплантации стента. Максимальное количество моноцитов после имплантации стента продемонстрировало корреляцию с неоинтимальным прорастанием стента в 6-месячном наблюдении. Был выявлен РС у 22-х пациентов, которые имели значительно более высокое максимальное количество моноцитов, чем пациенты без РС [10].

Гиперплазия неоинтимы происходит в результате миграции и пролиферации сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК) в субэндотелиальном слое и выработки ими остаточного количества внеклеточного матрикса [9]. От быстроты и завершенности процесса реэндотелизации после стентирования зависит в значительной степени интенсивность и продолжительность развития неоинтимы. Степень эндотелиального повреждения является важным предиктором дальнейшего восстановления сосуда. При частичном сохранении эндотелия в пределах стентированной КА модулируется клеточная пролиферация и уменьшается степень неоинтимальной гиперплазии и РС. Эндотелизация начинается сразу же после имплантации стента и длится по разным оценкам от 1-й до 4-х — 12-ти недель [3].

Слой клеток, покрывающий сверху стент, условно обозначается как «неоинтима», однако по клеточному составу и характеру образования имеет много различий с обычным интимальным слоем стенки КА. «Неоинтима» в основном состоит из ГМК, расположенных не продольно, как в медиальном слое нормальной КА, а имеет круговую ориентацию вокруг просвета артерии, и спиральное расположение ГМК начинается от просвета сосуда по направлению к поверхности стента. В зоне формирования РС задействование воспалительных клеток вызвано секрецией факторов роста, медиаторов воспаления и тканевых факторов, активирующих пролиферацию и миграцию ГМК — ключевых процессов, ведущих к развитию РС [13]. Больные ИБС с более высокими показателями клеточной активации и воспаления имеют наиболее высокий риск развития РС и сосудистых осложнений после успешной коронарной ангиопластики [11].

Известны некоторые медиаторы воспаления — цитокины, которые принимают участие в формировании РС КА. INF- γ играет важную роль в контролировании пролиферации неоинтимы, в частности, в культуре ГМК под действием IFN- γ происходит ингибирование апоптоза ГМК. ИЛ-1 β , оказывающий стимулирующее действие на метаболизм соединительной ткани, индуцирует формирование коронарного стеноза [20]; мРНК ИЛ-8, регулятора миграции различных типов клеток, определяется в течение 14-ти дней после повреждения в стентированных КА [18]. Локальный выход воспалительных молекул, вызванный имплантацией стента, запускает системную воспалительную реакцию в течение нескольких часов после стентирования. ИЛ-6 и ФНО- α рассматриваются как медиаторы острой фазы системного воспаления.

Показано, что у больных ИБС после коронарного стентирования исходно высокий уровень ИЛ-6 может приводить к развитию РС [8]. В работе [4] установлено, что уровень ИЛ-6 у больных ИБС с РС был выше, чем у больных ИБС без РС как исходно ($8,3 \pm 10,6$ против $3,0 \pm 3,2$ пг/мл), так и через 6 месяцев после стентирования ($3,8 \pm 3,8$ против $1,9 \pm 2,7$ пг/мл). При рецидиве стенокардии, обусловленном РС, через 18 мес после коронарного стентирования выявляется повышенная ($10,2\text{--}58,1$ %) экспрессия α -ФНО ($p = 0,038$). Средние значения α -ФНО у больных ИБС с РС в сравнении с группой без РС были выше как исходно ($10,6 \pm 8,9$ против $6,5 \pm 4,8$ пг/мл в), так и через 6 месяцев после стентирования ($9,5 \pm 7,2$ против $8,4 \pm 9,1$ пг/мл). Высокая степень активации провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, α -ФНО) после стентирования КА ассоциируется с высокой

частотой рецидивов стенокардии, ухудшением перфузии миокарда, прогрессированием атеросклероза в нативном русле КА.

Помимо провоспалительных цитокинов, противовоспалительные медиаторы TGF- β , ИЛ-10 вносят важный вклад в формирование неоинтимы и артериального ремоделирования после коронарной ангиопластики [15]. У пациентов с РС выявляется достоверно низкая концентрация ИЛ-10 в сравнении с пациентами без РС в период 6-месячного наблюдения [21]. Медиаторы воспаления из поврежденных коронарных эндотелиальных клеток стимулируют продукцию С-реактивного белка (СРБ) в печени и ГМК КА.

В ряде исследований установлена связь между уровнем СРБ и РС. В работе Xu Yan-lu с соавторами (2011) продемонстрировано, что плазменный уровень вч-СРБ перед и после имплантации стента с лекарственным покрытием является независимым прогностическим фактором РС в стенте [19]. Также Versaci с соавторами (2002) прослеживают связь между повышенным уровнем СРБ и РС в стенте. Исследователи наблюдали 83 пациента с имплантированными стентами, у которых было повышение плазменного уровня СРБ (более 0,5 мг/мл) в течение 72 часов после процедуры. Пациенты были рандомизированы в лечение с применением перорального преднизолона или плацебо в течение 45-ти дней. Шестимесячная частота РС была ниже в группе преднизолона (7 против 33 %). У принимавших преднизолон была выше общая выживаемость в течение года после процедуры (93 против 65 %) [17]. Эти данные показывают, что есть категория пациентов, идентифицированных системными маркерами воспаления, у которых прием препаратов, снижающих воспалительный процесс, способствует снижению частоты РС.

При повреждении эндотелиальных клеток концентрация медиаторов воспаления в крови увеличивается и может непосредственно усилить локальное воспаление и локальную реакцию на системные воспалительные молекулы. У больных со стабильной стенокардией поражением одного сосуда и нормальным исходным СРБ успешная имплантация стента сопровождается быстрым увеличением уровней СРБ с пиком в 48 часов. В работе Fukuda с соавторами (2004) показано, что имплантация стента сопровождается селективным увеличением индексов моноцитов, которые достигают максимума спустя 48 часов после процедуры. Интересно, что пациенты с повышенными уровнями СРБ в течение 48–72 часов и с более высокими индексами моноцитов в период 48 часов после процедуры имеют повышенный риск кардиальных событий в дальнейшем [10].

Таким образом, значение уровней СРБ, ряда про- и противовоспалительных цитокинов позволяет предсказать развитие РС в последующие месяцы после эндоваскулярного вмешательства. Риск развития РС зависит от величины и постоянства как локального воспаления, так и системной воспалительной реакции, которая может усиливать влияние локального воспалительного процесса.

Список литературы

1. Отдаленные результаты клинического применения отечественного нитинолового стента для лечения стенозирующих поражений артерий / Л. С. Коков, А. В. Покровский, А. Н. Балан [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия*. — 2002. — № 1. — С. 41–46.
2. Факторы риска и предикторы успеха чрескожных коронарных вмешательств у больных с хроническими окклюзиями коронарных артерий / А. Г. Осиев, С. П. Мироненко, Л. Е. Спайковская [и др.] // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. — 2004. — № 4. — С. 14–15.

3. Доклиническое исследование нового саморасширяющегося нитинолового стента / А. В. Протопопов, Т. А. Кочкина, Е. П. Константинов [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия*. — 2002. — № 4. — С. 33–42.
4. Раимбеков И. Р. Факторы воспаления в развитии рестеноза у больных ишемической болезнью сердца после коронарного стентирования : дис. ... канд. мед. наук / И. Р. Раимбеков. — М., 2007.
5. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes / P. Aukrust, F. Muller, T. Ueland [et al.] // *Circulation*. — 1999. — Vol. 100. — P. 614–620.
6. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in porcine proliferative restenosis model / A. Carter, J. Laird, A. Farb [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1994. — Vol. 24 (5). — P. 1398–1405.
7. Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty / F. Cipollone, M. Marini, M. Fazia [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2001. — Vol. 21. — P. 327–334.
8. Long-term Interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease : two new prospective studies and a systematic review / J. Denish, S. Kaptoge, A.G. Mann [et al.] // *PLoS Med.* — 2008. — Vol. 5 (4). — P. e78.
9. Morphological predictor of restenosis after coronary stenting in humans / A. Farb, D. K. Weber, F. D. Kolodgie [et al.] // *Circulation*. — 2002. — Vol. 105. — P. 2974–2980.
10. Circulating monocytes and in-stent neointima after coronary stent implantation / D. Fukuda, K. Shimada, A. Tanaka [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2004. — Vol. 43. — P. 18–23.
11. Gomma A. H. Preprocedural inflammatory markers do not predict restenosis after successful coronary stenting / A. H. Gomma, G. M. Hirschfield, J. R. Gellimore // *Am. Heart J.* — 2004. — Vol. 147 (6). — P. 1071–7.
12. Stent-induced expression and activation of the leukocyte integrin mac-1 is associated with neointimal thickening and restenosis / T. Inoue, T. Uchida, I. Yaguchi [et al.] // *Circulation*. — 2003. — Vol. 107 (13). — P. 1757–63.
13. Mitra A. K. In stent restenosis : bane of the stent era / A. K. Mitra, D. K. Agrawal // *J. Clin. Pathol.* — 2006. — Vol. 59 (3). — P. 232–9.
14. Nakagawa M. A. Decline in platelet activation and inflammatory cell infiltration in associated with the phenotypic redifferentiation of neointimal smooth muscle cells after bare-metal stent implantation in acute coronary syndrome / M. Nakagawa, T. Naruko, Y. Ikura // *J. Atheroscler. Thromb.* — 2010. — Vol. 17 (7). — P. 675–87.
15. Pasithorn A. Suwanabol. TGF- β and restenosis revisited : a smad link / Pasithorn, A. Suwanabol, K. Craig Kent, Bo Liu // *J. Surg. Res.* — 2011. — Vol. 167 (2). — P. 287–297.
16. Monocyte recruitment and neointimal hyperplasia in rabbits. Coupled inhibitory effects of heparin / C. Rogers, F.G. Welt, M.J. Karnovsky [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 1996. — Vol. 20. — P. 1312–1318.
17. Immunosuppressive therapy for the prevention of restenosis after coronary artery stent implantation (IMPRESS Study) / F. Versaci, A. Gaspardone, F. Tomai [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2002. — Vol. 40. — P. 1935–1942.
18. Leukocyte recruitment and expression of chemokines following different forms of vascular injury / F. G. Welt, C. Tso, E. R. Edelman [et al.] // *Vasc. Med.* — 2003. — Vol. 8. — P. 1–7.
19. Role of plasma C-reactive protein in predicting in-stent restenosis in patients with stable angina after coronary stenting / XU Yan-lu, LI Jian-jun, XU Bo [et al.] // *Chinese Medical Journal*. — 2011. — Vol. 124 (6). — P. 845–850.

20. Inflammation inhibitory effects of sirolimus and paclitaxel-eluting stents on interleukin-1 β -induced coronary artery in-stent restenosis in pigs / X.C. Zhou, R.C. Huang, B. Zhang [et al.] // Chin. Med. J. (Engl). — 2010. — Vol. 123 (17). — P. 2405–2409.
21. Plasma levels of C-reactive protein and interleukins-10 predict late coronary in-stent restenosis 6 months after elective stenting / A. Zurakowski, W. Wojakowski, T. Dzielski [et al.] // Kardiol. Pol. — 2009. — Vol. 67 (6). — P. 623–30.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF FORMATION OF RESTENOSIS AFTER CORONARY STENTING AT ISCHEMIC HEART DISEASE

A. I. Proskuryakov, S. P. Mironenko, A. G. Osiyev

*FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician
E. N. Meshalkin» Minhealthsocdevelopment (Novosibirsk c.)*

The state-of-the-art review of literary data on a role of a local and systemic inflammation is presented in article at restenosis development at patients with coronary heart disease after coronary stenting.

Keywords: coronary heart disease, coronary stenting, inflammation, cytokines.

About authors:

Proskuryakov Alexander Ivanovich — post-graduate student of cardiology correspondence department at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin», e-mail: Londrien_rus@mail.ru

Mironenko Svetlana Pavlovna — chief research scientist, doctor of medical sciences, professor of endovascular surgery and radiodiagnosis center at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin», office phone: 8: (383) 332-24-37, e-mail: mail@meshalkinclinic.ru

Osiyev Alexander Grigorievich — doctor of medical sciences, professor, head of endovascular surgery and radiodiagnosis center at FSBE «Novosibirsk scientific research institute of circulation pathology n.a. academician E. N. Meshalkin», office phone: 8: (383) 332-24-37, e-mail: mail@meshalkinclinic.ru

List of the Literature:

1. The remote results of clinical application of domestic nitinol stent for treatment of stenosing lesions of arteries / L. S. Kukov, A. V. Pokrovsky, A. N. Balan [etc.] // Angiology and vascular surgery. — 2002. — № 1. — P. 41-46.

2. Risk factors and predictors of success of transcatheter coronary interventions at patients with chronic occlusions of coronary arteries / A. G. Osiyev, S. P. Mironenko, L. E. Spaykovskaya [etc.] // Pathology of circulation and heart surgery. — 2004 . — № 4. — P. 14-15.
3. Preclinical research of a new self-extending nitinol stent / A. V. Protopopov, T.A.Kochkina, E.P. Konstantinov [etc.]//the Angiologia and vascular surgery. — 2002. — № 4. — P. 33-42.
4. Raimbekov I. R. Inflammation factors in restenosis development at patients with coronary heart disease after coronary stenting: dis. ... cand. of medical sciences / I. R. Raimbekov. — M, 2007.
5. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes / P. Aukrust, F. Muller, T. Ueland [et al.] // Circulation. — 1999. — Vol. 100. — P. 614–620.
6. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in porcine proliferative restenosis model / A. Carter, J. Laird, A. Farb [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 1994. — Vol. 24 (5). — P. 1398–1405.
7. Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty / F. Cipollone, M. Marini, M. Fazia [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2001. — Vol. 21. — P. 327–334.
8. Long-term Interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease : two new prospective studies and a systematic review / J. Denish, S. Kaptoge, A.G. Mann [et al.] // PLoS Med. — 2008. — Vol. 5 (4). — P. e78.
9. Morphological predictor of restenosis after coronary stenting in humans / A. Farb, D. K. Weber, F. D. Kolodgie [et al.] // Circulation. — 2002. — Vol. 105. — P. 2974–2980.
10. Circulating monocytes and in-stent neointima after coronary stent implantation / D. Fukuda, K. Shimada, A. Tanaka [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 2004. — Vol. 43. — P. 18–23.
11. Gomma A. H. Preprocedural inflammatory markers do not predict restenosis after successful coronary stenting / A. H. Gomma, G. M. Hirschfield, J. R. Gellimore // Am. Heart J. — 2004. — Vol. 147 (6). — P. 1071–7.
12. Stent-induced expression and activation of the leukocyte integrin mac-1 is associated with neointimal thickening and restenosis / T. Inoue, T. Uchida, I. Yaguchi [et al.] // Circulation. — 2003. — Vol. 107 (13). — P. 1757–63.
13. Mitra A. K. In stent restenosis : bane of the stent era / A. K. Mitra, D. K. Agrawal // J. Clin. Pathol. — 2006. — Vol. 59 (3). — P. 232–9.
14. Nakagawa M. A. Decline in platelet activation and inflammatory cell infiltration in associated with the phenotypic redifferentiation of neointimal smooth muscle cells after bare-metal stent implantation in acute coronary syndrome / M. Nakagawa, T. Naruko, Y. Ikura // J. Atheroscler. Thromb. — 2010. — Vol. 17 (7). — P. 675–87.
15. Pasithorn A. Suwanabol. TGF- β and restenosis revisited : a smad link / Pasithorn, A. Suwanabol, K. Craig Kent, Bo Liu // J. Surg. Res. — 2011. — Vol. 167 (2). — P. 287–297.
16. Monocyte recruitment and neointimal hyperplasia in rabbits. Coupled inhibitory effects of heparin / C. Rogers, F.G. Welt, M.J. Karnovsky [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 1996. — Vol. 20. — P. 1312–1318.
17. Immunosuppressive therapy for the prevention of restenosis after coronary artery stent implantation (IMPRESS Study) / F. Versaci, A. Gaspardone, F. Tomai [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 2002. — Vol. 40. — P. 1935–1942.

18. Leukocyte recruitment and expression of chemokines following different forms of vascular injury / F. G. Welt, C. Tso, E. R. Edelman [et al.] // Vasc. Med. — 2003. — Vol. 8. — P. 1-7.
19. Role of plasma C-reactive protein in predicting in-stent restenosis in patients with stable angina after coronary stenting / XU Yan-lu, LI Jian-jun, XU Bo [et al.] // Chinese Medical Journal. — 2011. — Vol. 124 (6). — P. 845-850.
20. Inflammation inhibitory effects of sirolimus and paclitaxel-eluting stents on interleukin-1 β -induced coronary artery in-stent restenosis in pigs / X.C. Zhou, R.C. Huang, B. Zhang [et al.] // Chin. Med. J. (Engl). — 2010. — Vol. 123 (17). — P. 2405-2409.
21. Plasma levels of C-reactive protein and interleukins-10 predict late coronary in-stent restenosis 6 months after elective stenting / A. Zurakowski, W. Wojakowski, T. Dzielski [et al.] // Kardiol. Pol. — 2009. — Vol. 67 (6). — P. 623-30.