

Состояние кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов и развитие нефропатии у больных острым коронарным синдромом и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа

А.Е. Кратнов, Е.С. Углов

Государственная медицинская академия. Ярославль, Россия

Neutrophils' redox regulation and nephropathy development in patients with acute coronary syndrome and Type 2 diabetes mellitus

A.E. Kratnov, E.S. Uglov

State Medical Academy, Yaroslavl, Russia

Цель. Изучить состояние кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов у больных острым коронарным синдромом (ОКС) в зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета 2 типа (СД-2).

Материал и методы. Обследованы 100 больных (средний возраст $63,7 \pm 9,4$ года) ОКС, из них 54 пациента с нестабильной стенокардией и 46 с инфарктом миокарда (ИМ). 46 пациентов страдали СД-2. Изучали тест восстановления нитросинего тетразолия с нейтрофилами, уровень малонового диальдегида (МДА), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в крови.

Результаты. Развитие повторного ИМ и смерти в течение года наблюдения у больных ОКС было связано с наличием нефропатии: рост креатинина, мочевины в крови и белка в моче, более выраженной при наличии СД-2, на фоне ЦИК-зависимой активации кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов и увеличения активности процесса перекисного окисления липидов. Наибольшая смертность наблюдалась среди пациентов с длительным стажем СД и лечившихся инсулином на догоспитальном этапе. У больных, которые до поступления в стационар принимали аспирин, наблюдалась гиперкалиемия.

Заключение. Развитие неблагоприятных исходов у больных ОКС связано с наличием нефропатии, более выраженной при СД-2, ассоциирующейся с ЦИК-зависимой активацией кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, сахарный диабет 2 типа, нефропатия, нейтрофилы, активные формы кислорода.

Aim. To study neutrophils' redox regulation in acute coronary syndrome (ACS) patients with or without Type 2 diabetes mellitus (DM).

Material and methods. We examined 100 ACS patients (mean age 63.7 ± 9.4 years): 54 with unstable angina, 46 — with acute myocardial infarction (MI). Type 2 DM was observed in 46 participants. NBT-test for neutrophils, blood levels of malone dialdehyde (MDA) and circulating immune complexes (CIC) were investigated.

Results. One-year incidence of MI and death in ACS patients was linked to nephropathy: increased levels of blood creatinine and urea, proteinuria (especially in Type 2 DM), combined with CIC-dependent activation of neutrophils' redox regulation and activated lipid peroxidation. Maximal mortality was observed in patients with greater duration of DM, and those on pre-hospital insulin therapy. Hyperkalemia was observed in patients taking aspirin before hospitalization.

Conclusion. Poor outcomes in ACS patients are linked to nephropathy (especially in Type 2 DM), associated with CIC-dependent activation of neutrophils' redox regulation.

Key words: Acute coronary syndrome, Type 2 diabetes mellitus, nephropathy, neutrophils, active forms of oxygen.

Известно, что развитие сахарного диабета 2 типа (СД-2) в несколько раз увеличивает риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), а у больных острым коронарным синдромом (ОКС) и СД ухудшает прогноз [1,2]. Одной из причин неблагоприятного прогноза у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) с сопутствующим СД-2 является отсутствие эффективного лечения [3].

В последние годы показано, что важную роль в развитии «оглушенности» миокарда при его ишемии и последующей реперфузии у больных ИБС играет свободнорадикальное окисление [4]. Одним из основных источников цитотоксичных кислородных радикалов при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда являются нейтрофилы [5]. При СД конечные продукты гликолиза белков, особенно липопротеинов низкой плотности (ЛНП), могут способствовать образованию свободных радикалов фагоцитами [6].

Цель настоящего исследования — изучить состояние кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов у больных ОКС в зависимости от наличия или отсутствия СД-2.

Материал и методы

В исследование были включены 100 больных различными формами ОКС (средний возраст $63,7 \pm 9,4$ года); из них 54 пациента с нестабильной стенокардией и 46 с инфарктом миокарда (ИМ), в т.ч. с наличием зубца Q (Q-ИМ) на электрокардиограмме (ЭКГ) — 35 (76%) больных. 46 пациентов с ОКС имели сопутствующий СД-2, из них 5 (10,8%) больных получали инсулин на догоспитальном этапе. У 3 (6,5%) больных СД был выявлен впервые. Средняя продолжительность диабета составляла в среднем 10,2 года. Диагноз нестабильной стенокардии и ИМ ставился согласно критериям Канадской ассоциации кардиологов. С целью верификации диагноза проводился тест на определение тропонина Т в крови. Больные после выписки из стационара находились под наблюдением в течение года. Конечными точками исследования считались развитие ИМ или его рецидив и смерть больного.

Нейтрофилы выделяли из гепаринизированной периферической крови, взятой утром натощак, в двойном градиенте плоскости фикола-верографина 1,077 и 1,092 г/мл. Для исследования брали клетки второй интерфазы, которую нейтрофилы составляли на 95%. В качестве индукторов кислород-зависимого метаболизма фагоцитов использовали взвесь 1×10^9 убитых клеток *Staphylococcus aureus* штамма p-209 для определения активности Fc-рецепторов (FcR) и фитогемагглютинин из бобов фасоли (*Phaseolus vulgaris*) для оценки активности C3-рецепторов (C3R) клеток. С целью изучения образования нейтрофилами супероксидного анион-радикала применяли спонтанный и стимулированный тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ), используя количественный спектрофотометрический метод по

Gentle TA, et al. 1990 [7] с 0,2% раствором нитросинего тетразолия. Конечный результат НСТ-теста рассчитывали на 1×10^6 фагоцитов, исходя из содержания в исследуемой суспензии 5×10^6 клеток. Уровень малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови определяли непрямой метод, основанный на способности МДА взаимодействовать с тиобарбитуровой кислотой при высокой температуре и низкой pH, с образованием окрашенного комплекса [8]. Количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) рассчитывали по методу Digeon A. и Mayer B. в модификации В.Гашковой с соавт. 1978 [9] преципитацией в растворе полиэтиленгликоля при pH 8,4.

При статистической обработке результатов использовали параметрические и непараметрические методы с помощью пакета Statistica 5.5. Данные исследований представлены в виде их средних значений и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Группа больных ОКС и сопутствующим СД-2 была по возрасту достоверно старше — $66,3 \pm 7,4 > 61,6 \pm 10,4$ ($p = 0,01$), среди них было больше женщин — $63,1\% > 35,2\%$; ($p = 0,009$) по сравнению с больными без СД-2. В анамнезе у этих пациентов достоверно чаще диагностировали ИБС — $91,3\% \text{ vs } 75,9\%$ ($p = 0,04$), перенесенный ранее ИМ — $58,6\% \text{ vs } 33,3\%$ ($p = 0,01$), а при поступлении в стационар — атипичное проявление болевого синдрома — $71,7\% \text{ vs } 53,7\%$ ($p = 0,04$) и аритмии на ЭКГ — $36,9\% \text{ vs } 25,9\%$. Важно, что у больных с уровнем глюкозы капиллярной крови $< 5,5$ ммоль/л, которые чаще других получали инсулин на догоспитальном этапе, наблюдалось достоверно большее количество случаев аритмий на ЭКГ — $63,6\% \text{ vs } 28,1\%$ ($p = 0,03$) по сравнению с пациентами, у которых показатели глюкозы были $> 6,1$ ммоль/л. На догоспитальном этапе больные ОКС и СД-2 чаще принимали аспирин — $30,4\% \text{ vs } 18,5\%$ и ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (иАПФ) $45,6\% \text{ vs } 22,2\%$ ($p = 0,02$).

За время наблюдения в течение года у обследованных больных наблюдалось 15 неблагоприятных исходов, из них 6 (40%) случаев коронарной смерти и 9 (60%) — рецидива ИМ, количество которых было достоверно больше — $15,2\% \text{ vs } 3,7\%$ ($p = 0,04$) у больных СД. У больных ОКС и СД с благоприятным исходом (таблица 1), в отличие от пациентов без СД, при поступлении в стационар было достоверно выше содержание глюкозы в капиллярной крови. Это сопровождалось достоверно более высокими показателями ЦИК и стимулированного фитогемагглютинином (через C3R) НСТ-теста с нейтрофилами. Прямая корреляция между пока-

Таблица 1

Биохимические и цитохимические показатели у больных ОКС в зависимости от исхода

Показатели	Контроль (n=20)	ОКС без СД (n=54)		ОКС с СД (n=46)	
		I. (n=37) Отсутствие повторных коронарных событий	II. (n=5) РеИМ + коронарная смерть	III. (n=19) Отсутствие повторных коронарных событий	IV. (n=10) РеИМ + коронарная смерть
Глюкоза, ммоль/л	4,5±0,4	4,1±0,5	3,4±0,4* **	8,3±3,3* ^	6,6±3,2* ^^
Мочевина, ммоль/л	6,7±1,6	6,3±1,9	8,2±3,9	7,4±1,6 ^	8,7±4,6
Креатинин, мг/дл	1,1±0,3	1,1±0,3	1,1±0,1	1,1±0,3	1,7±0,3* *** ^^
Калий, ммоль/л	4,1±0,9	4,1±0,7	3,7±0,3	4,3±0,4	4,8±0,8 ^^
Хлор, ммоль/л	98±6,4	94,1±9,3	104,1±3,4	98±6,5	101,7±9,7
СКФ, мл/мин	77,4±13,9	73,8±23,6	48,2±21,9* **	65,6±22,5	46,7±12,7*
Сп НСТ-тест, нмоль НСТ	94,7±14,4	93±25,2	110,9±15*	102,6±19,3	113,9±13,9*
Ст НСТ-тест (FcR)	105±6,3	100,9±23,2	115,1±21,1	112,3±31,8	138,8±39,3
Ст НСТ-тест (C3R)	103,4±7	98,4±25	143±38,3* **	118,9±28,6 ^	151,9±36,3* *** ^^
ЦИК, у.е.	22,6±19,7	56,9±53,2	47,2±46,5	103,1±79,3* ^	66,7±42,4* ^^
МДА, мкмоль/л	37,5±2,9	59,3±19*	71,2±24,9*	54,3±11,4*	87,1±25* ***
Белок мочи, г/л	0,003±0,008	0,007±0,01	0,07±0,04* **	0,06±0,1 ^	0,05±0,09

Примечание: p<0,05: * — по сравнению с контролем, ** — между I и II, *** — между III и IV, ^ — между I и III, ^^ — между II и IV группами; Сп — спонтанный, Ст — стимулированный.

зателями НСТ-теста и глюкозы капиллярной крови ($r=0,3$; $p=0,03$) свидетельствует о связи гипергликемии при СД с активацией фагоцитов, которые имеют специфические рецепторы к конечным продуктам гликирования белков и могут ими активироваться [6]. У пациентов с СД-2 и благоприятным исходом были достоверно выше показатели содержания мочевины в крови, а также белка в моче, уровень которого прямо коррелировал с показателями НСТ-теста ($r=0,33$; $p=0,04$), ЦИК ($r=0,31$; $p=0,04$) и мочевины ($r=0,43$; $p=0,01$). Это свидетельствует о важной роли нейтрофилов и образуемых ими свободных радикалов кислорода в развитии нефропатии при СД.

Таким образом, у больных ОКС и СД-2, у которых имел место благоприятный исход, в отличие от пациентов без СД на фоне гипергликемии диагностировали нефропатию, сопровождающуюся протеинурией и связанную с ЦИК-зависимой активацией кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов.

У пациентов с ОКС, у которых возникали повторные коронарные события, при поступлении в стационар независимо от наличия или отсутствия СД отмечали признаки нефропатии с нарушением азотвыделительной функции почек — увеличение содержания белка в моче, мочевины в крови, снижение скорости клубоч-

ковой фильтрации (СКФ). Это сопровождалось достоверным ростом показателей стимулированного через СЗР НСТ-теста с нейтрофилами и уровня МДА, между которыми зафиксирована прямая умеренная корреляция ($r=0,43$; $p=0,0007$). При этом у больных СД, в отличие от пациентов без СД, были достоверно выше концентрации креатинина и калия в крови на фоне увеличенных показателей стимулированного через СЗР НСТ-теста и ЦИК. Вышеуказанные данные свидетельствуют, что неблагоприятный исход у больных ОКС был связан с наличием нефропатии, более выраженной при СД-2, на фоне ЦИК-зависимой активации кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов.

Известно, что с возрастом уменьшается количество активных клубочков и развивается артерионефросклероз, в возникновении которого имеет значение сочетание различных механизмов: атеросклероз сосудов, эмболия кристаллами холестерина, гипертензивный нефроангиосклероз и возрастные изменения (атрофия) почек. У большинства больных ишемическая болезнь почек (ИБП) диагностируется поздно в связи с минимальной выраженностью мочевого синдрома и неспецифичностью симптомов. ИБП очень часто сочетается с СД-2 (20–30%) и поэтому остаются трудности в диагностике истинной диабетической нефропатии

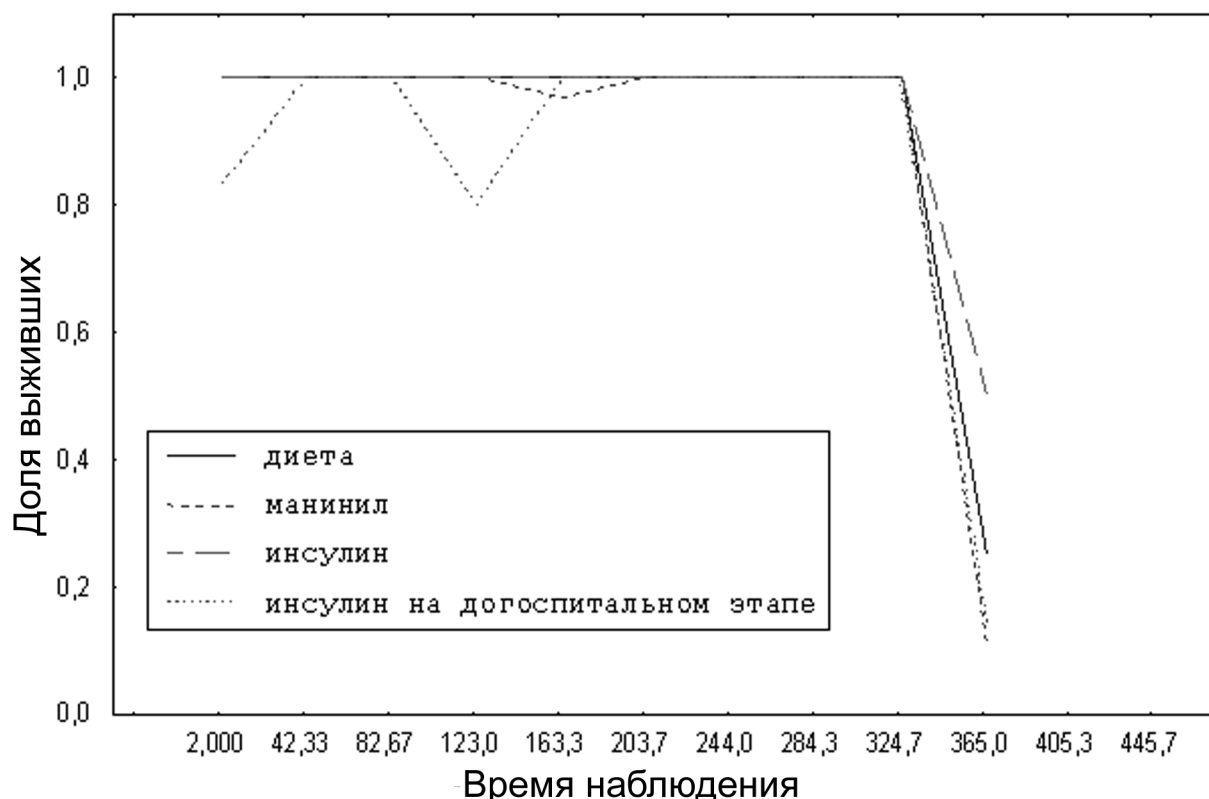


Рис. 1 Анализ выживаемости больных ОКС и СД в течение года наблюдения в зависимости от вида сахароснижающей терапии

при наличии комплекса инволютивных почечных изменений [10].

Доказано, что активированные нейтрофилы играют важную роль в патогенезе заболеваний почек. При хронической почечной недостаточности (ХПН) плохой прогноз предопределяет атрофия канальцев почек, немаловажную роль в которой играет апоптоз клеток тубулярного эпителия, опосредованный трансмембранным гликопротеином, являющимся членом семьи рецепторов к фактору некроза опухолей (TNF- α). Одними из причин, способных индуцировать апоптоз, служат свободные радикалы, образуемые активированными нейтрофилами, а также действие комплемента, уровень которого может повышаться вследствие гликозилирования белков при СД [11]. Не исключается, что фиксация продукта расщепления C3b-компонента комплемента на эндотелиальных клетках вызывает адгезию нейтрофилов (по аналогии с опсонизацией бактериальных клеток) [12]. В настоящем исследовании установлено, что активация кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов была более выражена при стимуляции через рецептор к C3b-компоненту комплемента (C3R). Поскольку при СД на ста-

дии протеинурии патологический процесс в почках приобретает независимое от вызвавших его метаболических причин (гипергликемии) течение, активации кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов у таких больных может способствовать дислипидемия и избыточный синтез атерогенных липидов, возникающие вследствие потери белка с мочой [13].

Наличие нефропатии при поступлении в стационар у больных ОКС, у которых в течение года развились повторные коронарные события, подтверждает более низкий уровень глюкозы капиллярной крови при поступлении. Это можно объяснить меньшей нагрузкой нефронов глюкозой при снижении СКФ, вследствие чего клетки проксимальных канальцев успевают ее реабсорбировать, а также снижением активности почечной инсулиназы [14]. Поскольку пациенты с СД и последующим неблагоприятным исходом чаще получали инсулин на догоспитальном этапе (таблица 2), более выраженная активация кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов у таких больных может быть связана с повышением концентрации катехоламинов в крови из-за хронической гиперинсулинемии [15]. Известно, что при введе-

Таблица 2

Сравнительная характеристика анамнестических данных у больных ОКС и СД
в зависимости от исхода

Показатели	I. (n=19) Отсутствие повтор- ных коронарных событий	II. (n=10) РеИМ + коронарная смерть	III. (n=3) Коронарная смерть
Возраст, годы (m±SD)	68,2±7,7	67,2±8,8	73±4
Нестабильная стенокардия	13 (68,4)	6 (60)	2 (66,6)
ИМ	10 (52,6)	4 (40)	1 (33,3)
Впервые выявленный СД	2 (10,5)	1 (10)	0 (0)
Стаж диабета, годы [^]	6,8 (0;15)	8,6 (0;15)	13,1 (5;24)**
В анамнезе:			
– ИМ	8 (42,1)	7 (70)	3 (100)
– АГ	14 (73,6)	8 (80)	1 (33,3)
– аритмия при поступлении на ЭКГ	6 (31,5)	4 (40)	2 (66,6)
– атипичное проявление боли	13 (68,4)	8 (80)	3 (100)
Лечение на догоспитальном этапе:			
– аспирин	3 (21)	8 (80)*	3 (100)**
– нитраты	9 (47,3)	6 (60)	2 (66,6)
– α -адреноблокаторы	7 (36,8)	6 (60)	1 (33,3)
– антагонисты кальция	2 (10,5)	0 (0)	0 (0)
– иАПФ	9 (47,3)	6 (60)	3 (100)
– гепарин ^{^^}	6 (31,5)	7 (70)	1 (33,3)
– наркотические анальгетики ^{^^}	8 (42,1)	7 (70)	2 (66,6)
– манинил	12 (63,1)	7 (70)	1 (33,3)
– инсулин	1 (5,2)	2 (20)	2 (66,6)**

Примечание: В скобках указаны проценты; [^] — указана медиана, в скобках — min и max значение; ^{^^} — в последние сутки; p<0,05: * — между I и II, ** — между I и III группами.

нии адреналина количество циркулирующих нейтрофилов увеличивается за счет перехода в циркуляцию части пристеночных клеток маргинального пула [16]. Под влиянием катехоламинов реципрокно усиливается рекрутирование нейтрофилов в легкие, в которых, как было доказано А. Коганом 1995 [17] у кардиологических больных нарастают способности гранулоцитов продуцировать свободные радикалы.

41 (89,1%) пациент с ОКС и СД-2 получали в стационаре сахароснижающую терапию, из них 32 (78%) — манинил-5 или микронизированный, 8 (19,5%) — инсулин, 3 больным он был назначен впервые. Диеты придерживались 5 (12,1%) больных. При изучении влияния различных видов сахароснижающей терапии на состояние кислород-зависимого метаболизма достоверные различия показателей при поступлении в стационар, перемещении из блока интенсивной терапии, при выписке и через год

отсутствовали. Однако наименьшая выживаемость в течение года наблюдения отмечена у пациентов, лечившихся инсулином на догоспитальном этапе (рисунок 1). В исследовании DIG-AMI (Diabetes mellitus Insulin-Glucose infusion in Acute Myocardial Infarction), 1999, снижение риска неблагоприятного исхода у больных с ИМ и СД, которым назначалась инфузия инсулина и глюкозы с последующей длительной инсулинотерапией, было достоверно более выражено в группе пациентов, никогда ранее не получавших инсулин [18]. По данным Cho L, et al. 1999 [19] инсулинотерапия у больных ИМ и СД сопровождалась достоверным повышением смертности на 30 день. Однако среди пациентов, лечившихся инсулином, было достоверно больше с ИМ в анамнезе.

В настоящем исследовании пациенты с неблагоприятным исходом имели больший стаж заболевания, им чаще назначали инсулин на догоспитальном этапе, особенно тем, кто

умер (таблица 2). У пациентов с СД, которые на догоспитальном этапе получали инсулин, стаж СД в среднем составлял 18 лет (от 10 до 24 лет). Это свидетельствует в пользу высокого риска развития выраженной диабетической нефропатии у данной группы больных, которая, как известно, развивается при стаже СД > 10 лет. Обращает внимание более высокое содержание калия в крови у больных СД и с неблагоприятным исходом, по сравнению с пациентами без повторных коронарных событий и без СД. Это свидетельствует о том, что у больных ОКС и СД на фоне диабетической нефропатии имели место признаки гипоренинемического гипоальдостеронизма, который развивается у лиц с СД и ХПН и сочетается с гиперкалиемией и гиперхлоремическим метаболическим ацидозом, не соответствующим степени нарушения функции почек. Развитие данного синдрома возможно на фоне применения аспирина. Фактором риска гиперкалиемии с ее способностью

вызывать фатальные нарушения ритма является и одновременное с аспирином назначение иАПФ [20]. Пациенты с ОКС и СД, у которых наблюдался неблагоприятный исход, достоверно чаще на догоспитальном этапе принимали аспирин на фоне иАПФ (таблица 2).

Заключение

Таким образом, развитие неблагоприятных исходов у больных ОКС связано с наличием нефропатии, более выраженной при наличии СД-2, ассоциирующейся с ЦИК-зависимой активацией кислород-зависимого метаболизма нейтрофилов и ростом содержания в крови вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Более частое развитие повторного ИМ и смерти у больных ОКС и СД наблюдается у пациентов с длительным стажем СД и синдромом гипоренинемического гипоальдостеронизма, связанного с приемом аспирина на догоспитальном этапе.

Литература

1. Jarrett RJ, Shipley MJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and cardiovascular disease – putative association via common antecedents: further evidence from the Whitehall study. *Diabetologia* 1988; 31: 737–40.
2. Woodfield SL, Lundergan CF, Reiner JS, et al. Angiographic findings and outcome in diabetic patients treated with thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: the GUSTO-I experience. *JACC* 1996; 28: 1661–9.
3. Козлов С.Г., Лякишев А.А. Лечение ишемической болезни сердца у больных сахарным диабетом 2 типа. *РМЖ* 2003; 9: 525–9.
4. Bolli R. Basic and clinical aspects of myocardial stunning. *Prog Cardiovasc Dis* 1998; 40: 477–516.
5. Маянский Д.Н., Маянская С.Д. Роль нейтрофилов в ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда. *Тер архив* 2001; 12: 84–8.
6. Мкртумян А.М. Кардиоваскулярные осложнения сахарного диабета 2 типа и особенности коррекции углеводного обмена. *Сердце* 2003; 6: 266–71.
7. Gentle TA, Thompson RA. Neutrophil function tests in clinical immunology. *Clinical Immunology A Practical Approach*. (ed. Gooi H.G., Chapel H.) New York: Oxford University Press 1990: 57–9.
8. Арутюнян А.В., Дубинина Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. Санкт-Петербург, ИКФ “Фолиант” 2000.
9. Гашкова В., Матл И., Кашлик И. Циркулирующие комплексы у больных иммунокомплексными заболеваниями и после трансплантации почек. *Чех Мед* 1978; 2: 117–22.
10. Мухин Н.А., Козловская Л.В., Кутырина И.М. и др. Ишемическая болезнь почек. *Тер архив* 2003; 6: 5–11.
11. Перевезенцева Ю.Б. Апоптоз и его роль в патогенезе заболеваний почек. *Нефрология* 2001; 4: 17–23.
12. Саложин К.В., Насонов Е.Л., Беленков Ю.Н. Роль эндотелиальной клетки в иммунопатологии. *Тер архив* 1992; 3: 150–7.
13. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. Москва «Универсум Паблишинг» 2000.
14. Аббакумова М.В., Дедов И.И., Древалъ А.В., Мухин Н.А. Диабетический гломерулосклероз при инсулинзависимом сахарном диабете. Стадии развития. Проблемы обратимости. *Тер архив* 1985; 6: 147–50.
15. Оганов Р.Г., Александров Ан.А. Инсулин и артериальная гипертензия: роль гиперсимпатикотонии. *Тер архив* 2002; 12: 5–7.
16. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. Москва «Медицина» 1995.
17. Коган А. Усиление генерации активных форм кислорода лейкоцитами в легких. *Врач* 1995; 11: 30–1.
18. Malmberg K, Norhammar A, Ryden L. Insulin treatment post myocardial infarction: The Digami Study. *Can J Cardiol* 1999; 15: 10–1.
19. Cho L, Hsu C-H, Marso SP. Sulfonylurea drug administration is not associated with increased short-term mortality among diabetics with acute myocardial infarction. *Circulation* 1999; 100: 720.
20. Тареева И.Е., Андросова С.О. Влияние ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов на почки. *Тер архив* 1999; 6: 17–22.

Поступила 16/04-2004