

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616-099-02:615.214]-07:616.153.962.3

Сыромятникова Е.Д.¹, Грызунов Ю.А.¹, Добрецов Г.Е.¹, Ильяшенко К.К.²**НОВЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АЛГОРИТМЫ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ПСИХОТРОПНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ**¹ФГУ НИИ физико-химической медицины ФМБА РФ, 119435, Москва; ²НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

У больных с острыми отравлениями психотропными препаратами при поступлении в стационар исследовали физико-химические свойства альбумина крови. Затем определяли общий уровень восстановленных тиолов в альбуминовой фракции; при значении показателя менее 250 мкмоль/л наблюдали значительно более частые случаи неблагоприятного развития заболевания, чем при значениях более 250 мкмоль/л. Это позволяет считать данный показатель прогностически значимым и оценивать индивидуальный риск неблагоприятного развития заболевания у данной категории больных. При острых отравлениях психотропными препаратами применение флуоресцентного альбуминового теста позволяет уже в 1-е сутки госпитализации выявить подгруппу пациентов с повышенным риском последующего развития пневмонии.

Ключевые слова: острые отравления; психотропные препараты; кровь; альбуминовая фракция сыворотки; восстановленные тиолы; пневмония; интенсивность флуоресценции.

E.D. Syromiatnikova, Yu.A. Gryzunov, G.E. Dobretsov

THE NEW DIAGNOSTIC ALGORITHMS IN EARLY PERIOD OF ACUTE INTOXICATIONS WITH PSYCHOTROPIC PREPARATIONS

¹The research institute of physical chemical medicine of the Federal medical biological agency of Russia, Moscow, Russia; ²The N.V. Sklifosofskii research institute of emergency care, Moscow, Russia

The patients with acute intoxications with psychotropic preparations were analyzed for physical chemical characteristics of blood albumin at admission to hospital. The common level of reduced thiols in albumin fraction was analyzed too. The more frequent cases of unfavorable course of disease were noted at indicator rate less than 250 mkmol/l than at rates higher than 250 mkmol/l. This occurrence permits to consider this indicator as prognostically significant and to evaluate individual risk of unfavorable course of disease in the given category of patients. Under acute intoxications with psychotropic preparations applying of fluorescent albumin test permits already at first day of hospitalization to reveal a subgroup of patients with higher risk of subsequent development of pneumonia.

Key words: acute intoxications; psychotropic preparations; blood; albumin fraction of blood; reduced thiols; pneumonia; intensity of fluorescence

Эндотоксикоз, сопровождающий острые отравления психотропными препаратами, часто приводит к развитию осложнений, органной и полиорганной недостаточности, которые и являются главной причиной смертности больных. При развитии пневмоний летальность достигает 42% [1].

В настоящее время доказано, что в патогенезе эндотоксикоза большое значение имеет состояние транспортных систем крови, в частности альбумина [1]. Этот белок ответственен за перенос множества метаболитов и ксенобиотиков. Благодаря наличию (в норме) свободной тиоловой группы альбумин вносит существенный вклад в антиокислительную защиту организма [2, 3]. Выполнение альбумином своих функций зависит не только от его количества, но и от конформации белковой глобулы [4–6]. Конформация влияет на доступность связывающих центров и тиоловой группы альбумина и, следовательно, на их функциональную способность.

Пневмонии при острых отравлениях психотропными препаратами наблюдаются в 25% случаев и обуславливают около 60% летальных исходов [7]. Клинические проявления пневмонии скудны. В подавляющем большинстве

наблюдений типичные для пневмонии жалобы и симптомы отсутствуют. Клиническая симптоматика пневмонии завуалирована симптомами сопутствующих осложнений (коматозное состояние, венозный застой, отек легких). Кашель не является типичным для данного осложнения, так как возникает в большинстве случаев при нарушении трахеобронхиальной проходимости из-за скопления слизистого или слизисто-гнойного секрета в дыхательных путях. Не типична также и температурная реакция, которая может появляться вследствие развития трахеобронхита, флебита и других воспалительных осложнений. Аускультативная картина в связи с очаговостью процесса и неравномерным его течением в различных очагах необычайно полиморфна и динамична.

Учитывая малую информативность клинических признаков, необходимо использовать инструментальные методы исследований для диагностики пневмонии, осложняющей течение острых отравлений. Важное диагностическое значение как на ранних ее стадиях, так и в динамике развития патологического процесса в легких имеет рентгенологическое исследование органов грудной полости.

По данным К.К. Ильяшенко и Е.А. Лужникова [8], наибольшее количество случаев пневмонии регистрируется на 3-и сутки пребывания больных в стационаре и составляет 43,5% от общего количества обследованных. Рентгенологическая диагностика пневмонии, развивающейся на фоне венозного застоя в легких, в раннем перио-

Для корреспонденции:

Сыромятникова Елена Давыдовна, науч. сотр.
Адрес: 119435, Москва, ул. М. Пироговская, 1а
E-mail: syromed@mail.ru

де интоксикации вызывает затруднение, а на фоне их отека практически невозможна. Следует отметить, что среди используемых в настоящее время лабораторных тестов не выделены наиболее информативные в отношении прогноза развития воспалительных инфильтратов в легких в раннем периоде острых отравлений психотропными препаратами.

Для контроля физико-химических свойств альбумина НИИ физико-химической медицины был создан флуоресцентный альбуминовый тест, который выявляет изменения свойств лекарственных связывающих центров альбумина при ряде заболеваний [9].

Цель настоящей работы – исследование концентрации тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови при острых отравлениях психотропными препаратами и поиски возможной корреляции концентрации тиолов с состоянием больного и прогнозом развития заболевания, а также оценка информативной значимости нарушений связывающих центров молекулы альбумина для прогноза риска развития пневмонии у этих больных.

Материалы и методы. Исследование восстановленных тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови было проведено в реакции Элмана [10] у практически здоровых людей ($n = 21$) в возрасте от 18 до 65 лет (12 мужчин, 9 женщин) и у 25 больных в возрасте от 19 до 72 лет (14 мужчин, 11 женщин) с острыми отравлениями психотропными препаратами. Больные были обследованы при поступлении в стационар на фоне проводимого интенсивного лечения. Кровь у обследованных пациентов брали без консерванта в сухую стеклянную пробирку. Отделяли сыворотку крови центрифугированием в течение 10 мин при 300 g. Затем выделяли альбуминовую фракцию сыворотки крови осаждением неальбуминовых белков с помощью 30% раствора полиэтиленгликоля (ПЭГ) с мол. массой 3000 Да в фосфатном буферном растворе (рН 6,4) и выделения фракции альбумина центрифугированием в течение 10–15 мин при 600 g [11]. На фотометре КФК-3 определяли общую концентрацию восстановленных тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови с помощью реакции с 5,5'-дителибис (2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ) по поглощению света при длине волны 412 нм с учетом холостой пробы. Значение концентрации восстановленных SH-групп альбуминовой фракции рассчитывали по отношению к значению экстинкции комплекса ДТНБ с тиолами (13000 л/(моль · см)) [10].

Для формирования диагностического алгоритма раннего выявления риска развития пневмонии при острых отравлениях психотропными препаратами обследовали 41 больного с тяжелой степенью острого отравления в возрасте от 17 до 76 лет. Контрольную группу составили 12 добровольцев в возрасте от 18 до 56 лет. Для регистрации изменений альбуминовых центров связывания был использован флуоресцентный зонд К-35, оригинальный, специфический краситель, который в сыворотке или плазме крови флуоресцирует практически только из альбумина [12]. Принцип метода основан на том, что взаимодействие флуоресцентного зонда с альбумином в сыворотке крови происходит неодинаково у здоровых и больных (по-видимому, в результате изменений в молекуле альбумина [6, 13]).

У больных в 1-е сутки пребывания в стационаре исследовали функциональное состояние альбумина сыворотки крови флуоресцентным методом. Кровь брали в сухую пробирку без консерванта. Отделяли сыворотку центрифугированием 10–15 мин при 1500 об/мин. Затем сыворотку разбавляли в 20 раз фосфатным буфером (рН

7,4) и к трем частям разбавленной сыворотки добавляли одну часть 2,5 М КСl в фосфатном буфере (рН 7,4) и перемешивали (конечная ионная сила раствора получается равной 0,625 М). Затем к полученной смеси прибавляли раствор флуоресцентного зонда К-35 до конечной концентрации 28 мкМ, снова перемешивали и измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения 450 нм и длине волны излучения 530 нм. Показатели интенсивности флуоресценции зонда К-35 в сыворотке крови измеряются в условных единицах. Измерения интенсивности флуоресценции (F) проводили с помощью анализатора АКЛ-01 и наборов реактивов «Зонд-альбумин» (Россия). Калибровку прибора осуществляли так, что калибратору ГСО 6296-91 с параметром интенсивности «536» соответствовали показания «100» на индикаторе прибора.

Расчет прогностической ценности данной модификации флуоресцентного теста для выявления уже в 1-е сутки госпитализации последующего развития пневмонии у больных с острыми отравлениями психотропными препаратами осуществляли согласно рекомендациям Р. Флетчера и соавт. [14]. Построение доверительных интервалов для частот проводили в предположении их биномиального распределения по формулам, предложенным Н.В. Готовым и соавт. [15].

При помощи граничного значения интенсивности флуоресценции выделяли группу больных с прогностически неблагоприятным развитием пневмонии. У некоторых из этих больных впоследствии развилась пневмония, у других – нет. Прогностическую ценность неблагоприятного результата теста рассчитывали как частоту (в %) развития пневмонии в группе неблагоприятного прогноза PV(+) по формуле:

$$PV(+) = (a/b) \cdot 100\%,$$

где a – число пневмоний в группе больных с прогностически неблагоприятным значением показателя; b – общее число больных с прогностически неблагоприятным значением показателя в обследованной группе.

Прогностическую ценность благоприятного результата теста рассчитывали как частоту (в %) отсутствия пневмонии в группе благоприятного прогноза PV(-) по формуле:

$$PV(-) = (c/d) \cdot 100\%,$$

где c – число больных в группе с отрицательным значением теста, т. е. с благоприятным прогнозом, d – общее число больных с прогностически благоприятным значением показателя в обследованной группе.

Шансы выздороветь без развития пневмонии при неблагоприятном результате теста рассчитывали как Ch(+) = $(100 - PV(+))/PV(+)$.

Шансы выздороветь без развития пневмонии при позитивном результате теста рассчитывали как Ch(-) = $(100 - PV(-))/PV(-)$.

Отношение правдоподобия (LR) – это отношение шансов выздороветь без развития пневмонии при позитивном результате теста к шансам выздороветь без развития пневмонии при неблагоприятном результате теста: $LR = Ch(-)/Ch(+)$. Чем выше величина LR, тем лучше данный показатель выделяет группу повышенного риска развития пневмонии у больных.

Результаты и обсуждение. У здоровых общий уровень восстановленных тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови составил 780 ± 56 мкмоль/л (см. таблицу). У больных этот уровень снижен в среднем в 1,5 раза, различие статистически значимо ($p \leq 0,05$). Особенно велика разница между здоровыми и группой больных с неблагоприятным исходом заболевания: в ней уровень тио-

Общий уровень восстановленных тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови (в мкмоль/л) у больных с острыми отравлениями психотропными препаратами при поступлении в стационар.

Число обследованных	Здоровые	Больные	Выжившие больные	Умершие больные
	21	25	21	4
Среднее значение $M \pm m$	780 ± 56	523 ± 75	600 ± 80	134 ± 24*
Диапазон min-max	250-1250	81-1200	100-1200	81-210

Примечание. * $p \leq 0,005$ достоверные различия между выжившими и умершими больными по непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

лов ниже в 5,8 раза ($p \leq 0,05$) В группе больных с неблагоприятным исходом уровень тиолов оказался в 3,9 раза ниже, чем в группе благоприятного исхода ($p \leq 0,05$).

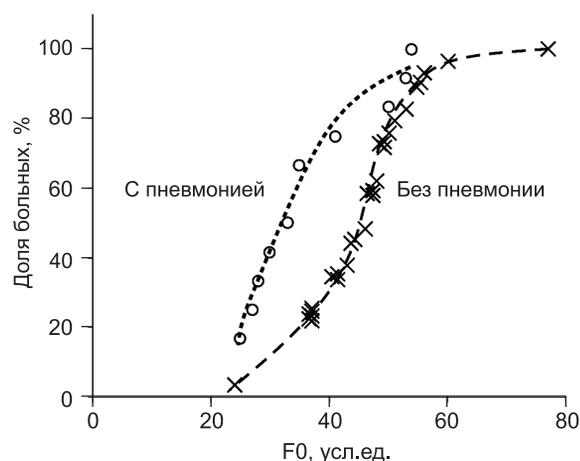
В группе пациентов с уровнем тиолов выше 250 мкмоль/л не наблюдалось летальных исходов. Уровень тиолов ниже этой границы имели 9 пациентов, из них 4 (44%) умерли.

Таким образом, прогностическая эффективность (доля правильных прогнозов среди выполненных наблюдений [16]) составила 0,80 (95% доверительный интервал (ДИ) от 0,64 до 0,94).

В результате проведенных исследований общего уровня восстановленных тиолов альбуминовой фракции сыворотки крови у больных с острыми отравлениями психотропными препаратами выявили его снижение. Недавно было обнаружено снижение уровня тиолов сыворотки у больных при психических расстройствах [17, 18]. Полученные нами данные свидетельствуют о нарушении антиокислительной защиты организма у обследованных пациентов уже при поступлении в стационар.

Нами были зарегистрированы достоверные изменения интенсивности флуоресценции зонда К-35 (F) из альбумина сыворотки крови больных с острыми отравлениями психотропными препаратами: среднее значение $F = 44 \pm 2$ усл. ед. при сравнении ее со здоровыми, у которых среднее значение $F = 54 \pm 2$ усл. ед.. У 12 больных в сроки от 2 до 4 сут пребывания в стационаре рентгенологически была диагностирована пневмония. В этой подгруппе среднее значение F в 1-е сутки госпитализации (когда еще не было клинических и рентгенологических признаков пневмонии) равно 37 ± 3 усл. ед. В то же время в подгруппе больных, у которых в дальнейшем пневмония не возникла, средняя величина $F = 47 \pm 2$ усл. ед.; это достоверно отличается от больных с пневмонией. Различия между двумя этими подгруппами наглядно продемонстрированы на рисунке. Представленные на рисунке кривые фактически являются интегралом гистограммы распределения пациентов по величине F . Как видно, большинство пациентов с пневмонией (около 75%) имеет F меньше 40 усл. ед., тогда как для большинства пациентов с неосложненным течением (более 70%) характерны величины F больше 40 усл. ед. Анализ полученных результатов позволил установить оптимальную условную границу интенсивности флуоресценции F , равную 36 усл. ед., и если F ниже этой величины, то данного пациента можно отнести к группе повышенного риска с угрозой развития пневмонии.

Специфичность данной модификации альбуминового флуоресцентного теста для прогнозирования раз-



Доля пациентов, у которых интенсивность флуоресценции зонда К-35 ниже величины F_0 , в подгруппах пациентов, у которых в дальнейшем развилась или не развилась пневмония. Величина F_0 показана на горизонтальной оси. Флуоресценция измерена в 1-е сутки госпитализации.

вития пневмонии у больных с острыми отравлениями психотропными препаратами в данном исследовании оказалась равной 98% (95% ДИ от 93 до 100%). Чувствительность – 67% (95% ДИ от 39 до 88%). Отношение правдоподобия равно 19,6.

Клинические примеры.

Больная Ч., 54 года. Диагноз: острое отравление смесью психотропных препаратов (стадия ПБ); при поступлении в стационар: кома с нарушением дыхания по смешанному типу, уровень сознания по шкале Глазго 3 балла, рентгенологических признаков пневмонии не обнаружено. Состояние больной крайне тяжелое. В 1-е сутки клинический анализ крови показал следующее: Hb 96 г/л, гематокрит 28%, л. $6,2 \cdot 10^9$ /л, п. 15%, с. 55%, лимф. 21%, мон. 9%; CO_2 27 мм/ч. Биохимический анализ крови: общий белок 60 г/л, мочевины 7,2 ммоль/л, креатинин 158 мкмоль/л, общий билирубин 7,75 мкмоль/л, глюкоза 7,0 ммоль/л. При рентгенологическом исследовании признаков пневмонии не обнаружено. Интенсивность флуоресценции $F = 31$ усл. ед., т. е. велика вероятность развития пневмонии. Рентгенологически пневмония выявлена на 4-е сутки, и, несмотря на проводимую интенсивную терапию, больная умерла.

Больная Ф., 34 года. Диагноз: острое отравление смесью психотропных препаратов (стадия ПБ); при поступлении в стационар: кома с нарушением дыхания по смешанному типу, уровень сознания по шкале Глазго 3 балла. Состояние больной тяжелое. В 1-е сутки клинический анализ крови: Hb 104 г/л, гематокрит 31%, л. $8,1 \cdot 10^9$ /л, п. 22%, с. 63%, лимф. 12%, мон. 4%; CO_2 53 мм/ч. Биохимический анализ крови: общий белок 67 г/л, мочевины 9,3 ммоль/л, креатинин 140,7 мкмоль/л, общий билирубин 5,17 мкмоль/л, глюкоза 6,0 ммоль/л. Интенсивность флуоресценции $F = 47$ усл. ед., т. е. вероятность развития пневмонии низка. Заболевание протекало без осложнений со стороны бронхолегочной системы.

Закключение. Таким образом, предложенные диагностические алгоритмы при острых отравлениях психотропными препаратами с применением флуоресцентного альбуминового теста позволяют уже в 1-е сутки госпитализации обнаружить пациентов с повышенным

риском последующего развития пневмонии, а при исследовании уровня восстановленных тиолов альбуминовой фракции выявлять больных с повышенным риском неблагоприятного развития заболевания, что может повысить эффективность проводимого лечения данной категории больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грызунов Ю.А., Сыромьятникова Е.Д., Ильяшенко К.К. Эндотоксикоз у больных с острыми отравлениями психотропными препаратами. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (4): 15–8.
2. Halliwell B. *Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. Therapeutic implications for antioxidant treatment*. *Drugs & Aging*. 2001; 18: 685–726.
3. Peters T., Jr. *All about Albumin. Biochemistry, genetics, and medical applications*. San Diego: Academic Press; 1999.
4. Грызунов Ю.А., Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е., Пестова А.В. Флуоресцентный способ определения массовой концентрации альбумина сыворотки крови человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1994; 5: 27–31.
5. Добрецов Г.Е., Сырейщикова Т.И., Грызунов Ю.А., Смолина Н.В., Поляк Б.М., Бабушкина Т.А., Климова Т.П. Альбуминовый флуоресцентный тест: физико-химические основы. *Эфферентная и физико-химическая медицина*. 2010; 2 (2): 3–12.
6. Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.E. Natural conformation of human serum albumin and its changes in pathology. In: *Roswell L.B., ed. Protein conformation: new research*. New York: Nova Publ.; 2008: 125–59.
7. Лужников Е.А., Костомарова Л.Г. *Острые отравления*. М.: Медицина; 2000.
8. Ильяшенко К.К., Лужников Е.А. *Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях*. М.: ИД МЭДПРАКТИКА-М; 2004.
9. Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А., Смолина Н.В., Родоман Г.В., Узбеков М.Г. Альбуминовый флуоресцентный тест: результаты клинических испытаний (обзор). *Эфферентная и физико-химическая медицина*. 2009; 1 (1): 16–21.
10. Ellman G., Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal. Biochem*. 1979; 93 (1): 98–102.
11. Vasileva R., Jakob M., Hasko F. Application of ion-exchange chromatography for the production of human albumin. *J. Chromatogr*. 1981; 216: 279.
12. Соколова Т.Н., Смолина Н.В., Миссионщик Э.Ю., Узбеков М.Г., Грызунов Ю.А., Копеева Л.Б. Реакционная способность тиола альбумина сыворотки крови как показатель изменения конформации альбуминовой глобулы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2005; 9: 71.
13. Сыромьятникова Е.Д., Добрецов Г.Е., Ильяшенко К.К. Способ раннего прогнозирования развития пневмонии при острых отравлениях психотропными препаратами. *Бюллетень изобретений и открытий*. 2011; 1: 34.
14. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. *Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины*. М.: Медиа Сфера; 1998.
15. Глотов Н.В., Животовский Л.А., Хованов Н.В., Хромов-Борисов Н.Н. *Биометрия*. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та; 1982.
16. Власов В.В. *Эффективность диагностических исследований*. М.: Медицина; 1988.
17. Smolina N., Sokolova T., Gryzunov Yu., Kopaeva L., Misionzhnik E., Uzbekov M. Albumin conformation and thiol reactivity in mental diseases. *J. Biol. Psych*. 2005; 6 (Suppl. 1): 330.

REFERENCES

1. Gryzunov Yu.A., Syromyatnikova E.D., Il'yashenko K.K. Endotoxemia in patients with acute poisoning with psychotropic drugs. *Obshchaya reanimatologiya*. 2005; 1 (4): 15–8. (in Russian)
2. Halliwell B. *Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. Therapeutic implications for antioxidant treatment*. *Drugs & Aging*. 2001; 18: 685–726.
3. Peters T., Jr. *All about Albumin. Biochemistry, genetics, and medical applications*. San Diego: Academic Press; 1999.
4. Gryzunov Yu.A., Miller Yu.I., Dobretsov G.E., Pestova A.V. Fluorescent method of determining mass concentration of human serum albumin. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 1994; 5: 27–31. (in Russian)
5. Dobretsov G.E., Syreyschikova T.I., Gryzunov Yu.A., Smolina N.V., Polyak B.M., Babushkina T.A., Klimova T.P. Albumin fluorescent test: physical chemical bases. *Efferentnaya i fiziko-khimicheskaya meditsina*. 2010; 2 (2): 3–12. (in Russian)
6. Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.E. Natural conformation of human serum albumin and its changes in pathology. In: *Roswell L.B., ed. Protein conformation: new research*. New York: Nova Publ.; 2008: 125–59.
7. Luzhnikov E.A., Kostomarov L.G. *Acute poisoning*. Moscow: Meditsina; 2000. (in Russian)
8. Il'yashenko K.K., Luzhnikov E.A. *Toxic damage of the respiratory system in acute poisoning*. Moscow: ID MEDPRAKTIKA-M; 2004. (in Russian)
9. Dobretsov G.E., Gryzunov Yu.A., Smolina N.V., Rodoman G.V., Uzbekov M.G. The fluorescent albumin test: data of clinical trials (Review). *Efferentnaya i fiziko-khimicheskaya meditsina*. 2009; 1 (1): 16–21. (in Russian)
10. Ellman G., Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal. Biochem*. 1979; 93 (1): 98–102.
11. Vasileva R., Jakob M., Hasko F. Application of ion-exchange chromatography for the production of human albumin. *J. Chromatogr*. 1981; 216: 279.
12. Sokolova T.N., Smolina N.V., Misionzhnik E.Tu., Uzbekov M.G., Gryzunov Yu.A., Kopaeva L.B. The reactivity of the serum albumin thiol as an indicator of changes in the conformation of albumin globule. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2005; 9: 71. (in Russian)
13. Syromyatnikova E.D., Dobretsov G.E., Il'yashenko K.K. *Method of early prognosis of pneumonia development in acute poisoning with psychotropic drugs*. Patent N 2408281; Rossiyskaya Federatsiya; 2011. (in Russian)
14. Fletcher R., Fletcher S., Vagner E. *Clinical epidemiology. The basics of evidence-based medicine*. Moscow: Media Sfera; 1998. (in Russian)
15. Glotov N.V., Zhivotovskiy L.A., Khovanov N.V., Khromov-Borisov N.N. *Biometrics [Biometriya]*. Leningrad; 1982. (in Russian)
16. Vlasov V.V. *The effectiveness of diagnostic tests [Effektivnost' diagnosticheskikh issledovaniy]*. Moscow: Meditsina; 1988. (in Russian)
17. Smolina N., Sokolova T., Gryzunov Yu., Kopaeva L., Misionzhnik E., Uzbekov M. *Albumin conformation and thiol reactivity in mental diseases*. *J. Biol. Psych*. 2005; 6 (Suppl. 1): 330.

Поступила 15.05.14
Received 15.05.14