ХРОНИЧЕСКАЯ СЕРДЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ И ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНАЯ АНЕМИЯ

М.В. Мельник, А.М. Шилов, И.Р. Ким, О.Н. Ретивых, А.А. Сарычева

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова

Хроническая сердечная недостаточность и железодефицитная анемия.

М.В. Мельник, А.М. Шилов, И.Р. Ким, О.Н. Ретивых, А.А. Сарычева

Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова

Было обследовано 62 больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) с железодефицитной анемией (ЖДА), которым на фоне стандартной терапии ХСН (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, β -блокаторы, диуретики, сердечные гликозиды) проводилась коррекция дефицита железа путем внутривенного введения Венофера с последующим назначением Ферро-Фольгаммы (средняя суточная доза железа $137,75 \pm 5$ мг). После лечения уровень сывороточного железа увеличился на 95,5%, а уровень гемоглобина - на 9,8%. Фракция выброса левого желудочка увеличилась на 32,2%, а толерантность к физической нагрузке - на 47,6%. До лечения у 32 больных ХСН с ЖДА (51,6%) был III функциональный класс (ФК) ХСН по NYHA, а у 16 пациентов (25,8%) - IV ФК. После лечения у 18 больных (29%) ХСН выявлен I ФК, а у 26 больных - II ФК и только у 18 больных - III ФК ХСН.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, железодефицитная анемия

РФК 2007; 1: 9-14

Chronic heart failure and iron-deficient anemia

M.V. Melnik, A.M. Shilov, I.R. Kim, O.N. Retivikh, A.A. Saricheva

Moscow Medical Academy named after I.M. Setchenov

62 chronic heart failure (CHF) patients with iron-deficient anemia (IDA) were studied. Standard CHF therapy (angiotensin converting enzyme inhibitors, β -blockers, diuretics, cardiac glycosides) was accompanied with the correction of iron deficiency by intravenous injection of Venofer and subsequent Ferro-Folgamma prescription (average daily dose of iron $137,75 \pm 5$ mg). After treatment serum iron level increased by 95,5% and hemoglobin level - by 9,8%. Left ventricular ejection fraction increased by 32,2% and physical activity tolerance - by 47,6%. Before treatment 32 CHF patients with IDA (51,6%) had III functional class (FC) of CHF according to NYHA and 16 patients (25,8%) - IV FC. After treatment I FC was observed in 18 CHF patients (29%), II FC - in 26 patients and only 18 patients demonstrated III FC of CHF.

Key words: chronic heart failure, iron-deficient anemia

Rational Pharmacother. Card. 2007; 1: 9-14

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) - неспособность сердца перекачивать объем крови, необходимый для метаболического обеспечения организма в состоянии нагрузки или покоя, занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и инвалидизации среди населения земного шара. Распространенность ХСН среди населения европейских стран достигает 2%, в России по данным эпидемиологического исследования ЭПОХА-ХСН - 5,6%. Основными причинами развития ХСН являются артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), ревматические пороки сердца, миокардиты, а также анемии различного происхождения.

В иностранной литературе часто встречается термин **анемия хронического заболевания**. Такие анемии нередко являются следствием тяжелой пато-

логии - ХСН, болезней почек, хронических инфекций, онкологических заболеваний и в значительной степени определяют объем и стоимость медицинской помощи, качество жизни пациентов.

По данным ежегодного отчета ВОЗ (1998), дефицит железа выявляется у 3,6 млрд населения, а железодефицитной анемией (ЖДА) страдают 1,8 млрд человек. ЖДА является распространенным анемическим синдромом, составляет, по данным различных авторов, 80-90% всех анемий и в настоящее время не отмечается тенденции к уменьшению этих показателей [6]. Крупное канадское исследование, посвященное эпидемиологии анемии при ХСН, включало 12 065 пациентов и показало, что в 27% случаев анемия имела характер железодефицитной, в 8% случаев была выявлена B_{12} - зависимая анемия и в 7% - фо-

Рис. 1. Распределение видов анемий при ХСН

лиеводефицитная, а в 58% – анемии хронических заболеваний (рис. 1).

В России (по данным отдела медицинской статистики и информатики Информационно-аналитического центра МЗ РФ от 2001 г) насчитывалось 480 тыс больных анемией, из них примерно 432 тыс – ЖДА [1, 4-6]. Поэтому ранняя диагностика и своевременное лечение ЖДА, усугубляющей тяжесть ХСН, являются актуальными.

Анемия у пациентов с ХСН встречается от 14 до 79%, находится в прямой зависимости от возраста и пола пациента, тяжести функционального класса ХСН: у лиц старше 65 лет анемия встречается у 90 мужчин и у 69 женщин на 1000 населения (в молодые годы анемия значительно чаще наблюдается у женщин). В возрасте старше 85 лет она выявляется у 27-40% мужчин и 16-21% женщин [7, 8, 12, 14, 15].

Данные многочисленных эпидемиологических исследований и собственный опыт свидетельствуют о том, что лица с ХСН – это пациенты пожилого возраста, имеющие, как правило, сопутствующие заболевания, среди которых часто отмечаются различные заболевания ЖКТ, в том числе атрофический гастрит, хронический колит, анемия различного происхождения, хроническая почечная недостаточность [14].

Анемия любой этиологии способна вызвать развитие или осложнить течение ХСН, особенно сопутствующая железодефицитная анемия. У больных, госпитализированных по поводу ХСН, средний уровень гемоглобина колеблется около 120 г/л (нижняя граница нормы), что косвенно свидетельствует о наличии латентной или клинически проявляемой анемии у большинства больных ХСН и ИБС, которая усугубляет тяжесть и способствует прогрессированию ХСН [13].

Фремингемское исследование показало, что анемия является независимым фактором риска для больных ХСН, а результаты исследования SOLVD показали, что уровень гематокрита является независимым фактором смертности при ХСН. За 33 мес наблюдения за больными ХСН смертность составила 22, 27 и 34% для величин гематокрита 40 – 44%, 35 – 39% и менее 35% соответственно. По данным исследования историй болезни 91 316 больных, госпитализированных по поводу обострения ХСН, анемия оказалась более сильным предиктором необходимости ранней повторной госпитализации, чем артериальная гипертензия или наличие ИБС с хирургической пластикой коронарных артерий [12].

На сегодняшний день недостаток железа (дефицит) является одной из наиболее частых причин нарушения психического и физического развития, поведения и работоспособности, серьезной проблемой для здоровья общества. Железодефицит (гипосидероз, сидеропения) встречается почти у половины населения земного шара, служит наиболее частой причиной анемии и остается одной из серьезных проблем здравоохранения во всем мире.

ЖДА представляет собой клинко-гематологический синдром, возникающий при развитии дефицита железа (Fe) вследствие различных патологических (физиологических) процессов, и характеризуется снижением уровня гемоглобина в сочетании с клиническими признаками анемии и сидеропении [3, 4].

Факторами, приводящими к развитию анемии у больных ХСН, могут быть мальабсорбция (как результат венозного застоя в желудочно-кишечном тракте), сердечная кахексия, связанная с компенсаторной гиподинамией и неполноценным питанием, применение аспирина. Длительное применение ингибиторов АПФ при лечении ХСН может приводить к снижению уровня гемоглобина через подавление секреции эритропоэтина (ЭПО) эндотелием почечных канальцев. Другой причиной развития анемии являются опухлево-некротический фактор, уровень которого повышается у пациентов с ХСН и коррелирует с тяжестью анемии.

Потенциальные причины развития анемии при ХСН

1. Ишемическое повреждение костного мозга.
2. Снижение синтеза ЭПО в почках.
3. Нарушение захвата ЭПО костным мозгом.
4. Снижение высвобождения Fe из ретикуло-эндотелиальной системы.
5. Токсическое действие цитокина тумор-некротического фактора – α (TNF α).
6. Микрокровотечения вследствие длительного приема препаратов аспирина.
7. Подавление синтеза ЭПО длительным приемом иАПФ; [7, 9, 10, 11].

D.S. Silverberg (2001) при обследовании 142 больных ХСН выявил прямую зависимость функционального класса (ФК) ХСН от уровня гемоглобина (Hb): при Hb > 137 г/л IV ФК был только в 9,1% наблюдений, а при Hb < 109 г/л IV ФК был в 79,1% наблюдений.

У 62 наблюдавшихся нами больных ХСН в сочетании с ЖДА (Hb ≤ 120 г/л, сывороточное Fe ≤ 10 мкмоль/л) выявлена прямая зависимость тяжести ФК ХСН от уровня гемоглобина: II ФК – Hb = 102,3 ± 3,1 г/л, III ФК – Hb = 97,6 ± 2,1 г/л, IV ФК – Hb = 84,4 ± 3,1 г/л.

Клиническая картина ЖДА

У больных ЖДА имеет место мышечная слабость, которая не наблюдается при других видах анемий и является проявлением сидеропении. Один из типичных признаков ЖДА – поражение слизистой ЖКТ. В связи с этим возникло неправильное представление о том, что первичным звеном в патогенезе ЖДА являются заболевания слизистой желудка и тонкого кишечника с нарушением всасывания железа. У большинства пациентов с ЖДА снижается аппетит, возникает потребность в кислой, острой пище. В более тяжелых случаях наблюдаются извращения обоняния и вкуса (pica chlorotica): употребление в пищу мела, известки, сырых круп. В 25% наблюдается глоссит и изменения слизистой полости рта, что ведет к снижению вкусовых ощущений, появлению чувства покалывания, жжения и распираания языка, особенно на его кончике. При осмотре обнаруживаются атрофические изменения слизистой оболочки языка, трещины на кончике и по краям, в более тяжелых случаях – афтозные изменения с участками покраснения неправильной формы – «географический язык». Атрофический процесс также захватывает слизистую губ: появляются трещины и «заеды» в углах рта (хейлоз), изменения зубной эмали. Характерен синдром сидеропенической дисфагии (синдром Пламмера – Винсона), который проявляется затруднением глотания сухой и плотной пищи, чувством першения, наличия инородного тела в глотке, что в некоторых случаях приводит к употреблению только жидкой пищи.

Нарушения функции желудка (тошнота, отрыжка, ощущение тяжести в эпигастрии после еды) вызваны наличием атрофического гастрита и ахилии, которые определяются морфологическими (биопсия слизистой оболочки) и функциональными (желудочная секреция) исследованиями. Признаки тканевой сидеропении быстро исчезают после приема препаратов железа.

Со стороны сердечно-сосудистой системы при ЖДА больные жалуются на сердцебиение, одышку, загрудинные боли, появление отеков. Имеет место расши-

рение границ сердечной тупости влево, выслушивается анемический систолический шум на верхушке и легочной артерии, «шум волчка» на яремной вене, гипотензия и тахикардия. На ЭКГ регистрируются признаки нарушения фазы реполяризации.

Проявлением дефицита железа иногда является лихорадка, температура обычно не превышает 37,5°C и снижается после лечения препаратами железа.

Течение ЖДА хроническое, с периодами обострения и ремиссии. При отсутствии правильной патогенетически обоснованной терапии ремиссии неполные и сопровождаются симптомами тканевой сидеропении.

Лабораторная диагностика ЖДА

При выявлении ЖДА решающее значение имеют данные лабораторных исследований крови, костного мозга и обмена железа. Картина крови характеризуется наличием признаков гипохромной микроцитарной анемии со снижением концентрации Hb и цветового показателя (<0,7). Гипохромия – уменьшение средней концентрации Hb в эритроцитах (МСН < 24 пг); микроцитоз – уменьшение размеров эритроцитов (MCV < 75 нм) При значительном дефиците железа снижается уровень гематокрита < 35%. В мазках крови преобладают небольшие гипохромные эритроциты, аннулоциты (эритроциты в виде колец с отсутствием Hb в центре), эритроциты неодинакового размера и формы (анизоцитоз, пойкилоцитоз). При тяжелых анемиях могут появляться эритробласты. Только при анемии, развившейся на фоне кровопотери, непосредственно после кровотечения количество ретикулоцитов повышается, что является важным признаком ЖДА при кровотечении. Осмотическая резистентность эритроцитов мало изменена или несколько повышена. Количество лейкоцитов имеет нерезко выраженную тенденцию к снижению, без изменения лейкоцитарной формулы. Количество тромбоцитов нормальное, с некоторым увеличением при кровотечениях [3, 4].

В костном мозге при ЖДА можно обнаружить эритробластическую реакцию с задержкой созревания и гемоглобинизации эритробластов на уровне полихроматофильного нормоцита. Костный мозг в большинстве случаев гиперпластичен. Увеличивается соотношение клеток белого и красного ряда, с преобладанием последнего (эритробласты составляют 40-60% всех клеток) [3].

Существует ряд тестов, позволяющих изучить динамику нарушений обмена железа в организме. Уровень железа в сыворотке крови здоровых людей (по методу Henry) составляет у мужчин от 12,5 до 32 ммоль/л, у женщин на 15% меньше; при дефиците железа он снижается до 5 ммоль/л и менее. Общая железосвязывающая способность плазмы крови (или

общий трансферрин сыворотки) при ЖДА увеличивается (норма 50-65 мкмоль/л). Около 1/3 всего количества трансферрина сыворотки связано с железом (показатель насыщения трансферрина железом). Остальное количество трансферрина свободно и характеризует скрытую железосвязывающую способность сыворотки крови. У больных с дефицитом железа происходит снижение трансферрина до 10-20 мг/л, но при этом увеличивается скрытая железосвязывающая способность плазмы [6].

Таким образом ранняя диагностика и своевременная коррекция ЖДА являются актуальными в общей проблеме профилактики, лечения и улучшении прогноза при ХСН.

Цель лечения ЖДА при ХСН – достижение нормально-допустимого уровня Hb (≥ 120 г/л) путем перорального или парентерального (в/в) введения необходимого количества железа [6, 9]. В лекарственных препаратах железо может быть представлено в 2 видах: **ионизированном** (Fe^{++}) в составе органических или неорганических солей (фумарат, лактат, сульфат, хлорид) и **неионном** в составе комплексов, содержащих окисное железо (Fe^{+++} – железо гидроксит полимальтозат или сахарозный комплекс). Препараты ионизированного железа используются только перорально, препараты комплексов окисного железа – парентерально.

Пероральные железосодержащие препараты – препараты выбора для многих пациентов с ХСН и ЖДА вследствие их эффективности и низкой стоимости. Однако в 45% случаев среди пациентов с ЖДА на фоне приема железосодержащих препаратов (примерно через 1 ч после приема) появляются симптомы раздражения верхнего отдела ЖКТ, которые могут быть легкими (в виде тошноты, дискомфорта в эпигастриальной области) или тяжелыми (абдоминальные боли, рвота). С целью ограничения побочных эффектов следует снижать расчетную дозу или принимать препараты во время еды, однако в этих случаях всасывание железа уменьшается [5, 6, 9].

В настоящее время оптимальным препаратом для перорального применения при лечении ЖДА является Ферро-Фольгама (Woerwag Pharma) – комбинированный препарат, одна капсула которого содержит 100 мг сульфата железа, 5 мг фолиевой кислоты, 10 мкг цианокобаламина и 100 мг аскорбиновой кислоты, с минимальными побочными эффектами по сравнению с другими железосодержащими препаратами для перорального применения.

Внутривенное восполнение запасов железа рекомендуется в следующих случаях:

- у пациентов с непереносимостью пероральных препаратов железа;
- у больных ЖДА, когда необходимо быстрое вос-

полнение железа;

- у пациентов в послеоперационном или послеродовом периоде;
- в клинических ситуациях, связанных с плохим усвоением железа перорально.

Следует отметить, что риск развития побочных явлений ограничивает использование препаратов железа для внутривенного введения. Среди пациентов, получавших декстран железа в/в, в 0 - 2,3% случаев имели место анафилактические реакции в виде сердечно-сосудистого коллапса и дыхательной недостаточности. Напротив, Fe^{+++} – гидроксит сахарозный комплекс – Венофер (Vifor) обладает высокой безопасностью и представляет альтернативный препарат с низким риском развития побочных реакций. При использовании этого железосодержащего препарата в/в у тысячи пациентов анафилактические реакции возникли только в 0,0046% наблюдений [9].

Расчет дозы железосодержащего препарата при лечении ЖДА следует производить индивидуально с учетом дефицита железа у больного по формуле:

общий дефицит железа (мг) = масса тела (кг) $\times$ $(150 - \text{Hb} \text{ больного}) (\text{г/л}) \times 0,24 + 500$ мг, где коэффициент $0,24 = 0,0034 \times 0,07 \times 1000$ (содержание железа в Hb = 0,34%, объем крови 7%, 1000 – коэффициент перевода «г» в «мг»), 500 – количество депонированного железа в норме для пациентов с массой более 35 кг.

Наш опыт коррекции железодефицита основан на лечении 62 больных ХСН в сочетании с ЖДА. Степень ХСН оценивали по классификации Научного общества сердечной недостаточности (2001), функциональный класс ХСН оценивали по классификации NYHA и нагрузочному тесту – количество метров за 6 мин ходьбы без отдышки [2]. Результаты обследования до и после лечения представлены в табл. 1.

В стандартную программу лечения ХСН (иАПФ, β -блокаторы, сердечные гликозиды, диуретики) были включены парентеральные - Венофер (Fe^{+++} – гидроксит сахарозный комплекс) и пероральные препараты железа – Ферро-Фольгама (1 капсула содержит 100 мг сульфата железа, 5 мг фолиевой кислоты, 10 мкг цианокобаламина и 100 мг аскорбиновой кислоты).

Венофер вводили в/в в течение 7-10 дней (в среднем суммарная доза Fe для пациента составила $1444,6 \pm 27,1$ мг), затем в течение 2-3 нед переходили на пероральный прием Ферро-Фольгаммы (в среднем суточная доза чистого Fe для пациентов составила $137,75 \pm 7,5$ мг, что соответствовало 3,7 капсулы в сутки). К моменту выписки из стационара отмечено увеличение сывороточного железа на 95,5% и концентрации Hb – на 9,8%, что сопровождалось улучшением показателей центральной гемодинамики: фракция выброса возрасла на 32,2%,

Таблица 1. Динамика показателей центральной гемодинамики, уровня гемоглобина и сывороточного железа до и после лечения (ФВ-фракция выброса, УО-ударный объем)

До лечения			
II А ст., n = 26 (54,2%)		II Б ст., n = 36 (45,8%)	
II ФК ХСН (NYHA) n = 14	III ФК ХСН (NYHA) n = 12	III ФК ХСН (NYHA) n = 20	IV ФК ХСН (NYHA) n = 16
ФВ% = 47,8±1,8	ФВ% = 46,1±1,5	ФВ% = 44,6±1,6	ФВ% = 36,4±1,9
УО мл = 46,2±3,6	УО мл = 43,1±2,5	УО мл = 43,2±1,6	УО мл = 40,3±1,6
Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)
408,9 ±25,2	295,1±26,1	257,3±24,2	125,4±27,3
Hb = 100,3±3,5 г/л		Hb = 86,73±4,3 г/л	
Fe сыворотки (моль/л) = 6,21±0,22		Fe сыворотки (моль/л) = 6,02±0,17	
После лечения			
I ФК ХСН (NYHA) n = 18	II ФК ХСН (NYHA) n = 8	II ФК ХСН (NYHA) n = 18	III ФК ХСН (NYHA) n = 18
ФВ% = 59,4±2,8	ФВ% = 53,9±1,8	ФВ% = 51,7±2,6	ФВ% = 46,4±1,9
УО мл = 56,2±4,1	УО мл = 55,4±3,5	УО мл = 50,2±3,7	УО мл = 49,4±4,6
Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)	Ходьба 6 минут (м)
455,6±26,2	398,1±26,1	409,3±25,8	346±24,3
Hb = 109,1±3,5 г/л		Hb = 108,2±4,2 г/л	
Fe сыворотки (моль/л) = 12,5±0,7		Fe сыворотки (моль/л) = 11,5±0,68	

Таблица 2. Динамика ФК (NYHA) ХСН до и после лечения

ФК ХСН	До лечения	После лечения
I	0	18
II	14	26
III	32	18
IV	16	0

Рис. 2. Динамика толерантности к физической нагрузке (тест 6-минутной ходьбы)

ударный объем увеличился на 51,7%, а толерантность к физической нагрузке возрасла на 47,6% (рис. 2).

Улучшение насосной деятельности сердца способствовало более эффективному устранению клинических признаков ХСН и переходу пациентов в более благополучный функциональный класс (табл. 2). Так, до лечения у 32 пациентов ХСН с ЖДА (51,6%) был III ФК(NYHA), у 16 пациентов (25,8%) – IV ФК(NYHA), после лечения 18 пациентов (29%) перешли в I ФК (NYHA), 26 больных к концу лечения имели II ФК (NYHA) и только 18 пациентов имели III ФК (NYHA) ХСН.

Аналогичную динамику со стороны показателей центральной гемодинамики при лечении ХСН с одновременной коррекцией ЖДА приводят и другие исследователи [13, 16 – 18].

Таким образом, коррекция анемии, является очень важным (если не жизненно необходимым) дополнением к комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся ХСН.

Литература

1. Арутюнов Г.П. Анемия у больных с ХСН. Журнал Сердечная Недостаточность. 2003; 4(5): 224-227.
2. Беленков Ю.Н. Классификация хронической сердечной недостаточности. Сердечная недостаточность. 2001; 2(6): 249-250.
3. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. М. «Медицина». 1985; 2: 3-160.
4. Вуд Мари Э., Банн Пол А., Токарев Ю.Н., Бухин А.Е. Секреты гематологии и онкологии. Русский Медицинский журнал. 2002; №28.
5. Дворецкий Л.И. Клинические рекомендации по лечению больных железодефицитной анемией. Русский медицинский журнал. 2004; 12(14): 893-897.
6. Городецкий В.В., Годулян О.В. Железодефицитные состояния и железодефицитная анемия: лечение и диагностика. М. Медпрактика, 2004: 3-28.
7. Луговская С.А. Патогенез и диагностика анемий при хронических заболеваниях. Клиническая лабораторная диагностика. 1997; 112: 19-22.
8. Alexander M., Grumbach K., Remy L. et al. Congestive heart failure hospitalization and survival in Califon patterns according to race ethnicity. Am. Heart J. 1999; 137: 919-927.
9. Burns D.L, Mascioli E.A., Bistrain B.R. Parenteral iron dextran: a review. Nutrition. 1995; 11: 163-168.
10. Chatterjee B., Nydegger U.E., Mohacsi P. Serum erythropoietin in heart failure patients treated with ACE-inhibitors or AT(1) antagonists. Eur.J. Heart Fail. 2000; 2: 393-398.
11. Iversen P.O., Woldbaek P.R., Tonnessen T., et al. Decreased hematopoiesis in bone marrow of mice with congestive heart failure. Am J Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol. 2002; 282: 166-172.
12. Kannel W. Epidemiology and prevention of cardiac failure. Framingham Study insights. Eur. Heart J., 1987; 8 Suppl.F: 23-26.
13. Kalra P.R., Bolger A.P., Francis D.P. et al. Effect of anemia on exercise tolerance in chronic heart failure. J. Cardiol. 2003; 91: 888- 891.
14. Miller L.W., Myssov E.D. Epidemiology of heart failure. Cardiol. Clin. 2001; 19: 547-555.
15. Robinson B. Cost of anemia in the elderly. J Am Geriatr Soc. 2003; 51 (3 Suppl): S14-7.
16. Salahudeen AK., Oliver B., Bower J.D., et al. Increase in plasma esterified F2-isoprostanes following intravenous iron infusion in patients on hemodialysis. Kidney Int. 2001; 60: 1525-1531.
17. Silverberg D.S., Wexler D., Blum M. et al. The interact between Heart Failure, Renal Failure and Anemia; The Cardio-Renal Anemia Syndrome. Blood Purification. 2004; 22: 277-284.
18. Silverberg D.S., Wexler D., Sheps D. et al. The effect of correction of mild anemia in severe, resistant congestiv heart failure using subcutaneous erythropoietin and intravenous iron. A randomized controlled study. J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 37: 1775-1780.