УДК 616.24-005.6-092.4: 615.272:615.272.52

АНТИТРОМБОТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАНИЯ АНТИКОАГУЛЯНТА И ТРОМБОЛИТИКА В УСЛОВИЯХ ПОРАЖЕНИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА ЛЕГКИХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СИСТЕМНОГО ТРОМБОЗА

[1]Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск
[2]Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск

Мадонов П.Г.[1], Ершов К.И.[1], Мишенина С.В.[1], Байкалов Г.И.[1], Чурин А.А.[2], Фёдорова Е.П.[2], Фомина Т.И.[2], Филонова М.В.[2], Удут В.В.[2]

Целью исследования была оценка результатов сочетанного применения антикоагулянта и тромболитика для профилактики развития летального тромбоза сосудов легких. Экспериментальный системный тромбоз вызывался внутривенным введением тромбопластина и подтверждался морфологически. На модели системного тромбоза по параметрам летальности и морфологической картине в сосудах легких оценена эффективность антитромботического действия антикоагулянта Эноксапарин и его сочетанного введения с тромболитиком Тромбовазим. Продолжительность эксперимента 11 суток. Тромбовазим вводился внутрижелудочно 0,5 мл (8 ЕД), Эноксапарин натрия вводился инъекционно подкожно 10 мг/кг/сутки – 0,2 мг/мышь. 3 группы животных: 1 – контрольная (15 животных), в первый день эксперимента в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг тромбопластина; 2 группа – 15 животных, в первый день эксперимента интрагастральное введение Тромбовазима в дозе 350 Ед/кг и подкожная инъекция Эноксапарина в дозе 10 мг/кг, через 4 часа в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг тромбопластина; 3 группа – 15 животных, в первый день подкожная инъекция Эноксапарина в дозе 10 мг/кг, через 4 часа в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг тромбопластина. В контрольной группе отмечалась гибель четырех животных: трех в течение 30 минут после введения и одного через 24 часа после введения тромбопластина. В группе 2 гибели мышей не наблюдалось. В группе 3 отмечалась гибель двух животных через 24 часа после введения тромбопластина. Сочетанное введение низкомолекулярного гепарина и перорального тромболитика профилактирует летальный исход при экспериментальном тромбозе легочных сосудов.
Ключевые слова: *экспериментальный тромбоз сосудов легких, Тромбовазим, Эноксапарин натрия.*

ANTITHROMBOTIC EFFECTS OF COMBINATION OF ANTICOAGULANT AND THROMBOLYTIC IN CONDITIONS OF LESION OF THE PULMONARY VASCULAR BED IN MODELING SYSTEMIC THROMBOSIS

[1]Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk
[2]Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk

P.G. Madonov[1], K.I. Ershov[1], S.V. Mishenina[1], G.I. Baikalov[1], A.A. Churin[2], E.P. Fedorova[2], T.I. Fomina[2], M.V. Filonova[2], V.V. Udut[2]

The research objective was to evaluate the results of combined use of anticoagulant and thrombolytic for the prevention of the development of lethal thrombosis of pulmonary vessels. Experimental systemic thrombosis was caused by intravenous administration of thromboplastin and was confirmed morphologically. The effectiveness of antithrombotic action of the Enoxaparin anticoagulant and its combined introduction with the Trombovazim thrombolytic was assessed on the model of systemic thrombosis by the parameters of lethality and morphological picture in pulmonary vessels. The experiment lasted for 11 days. Trombovazim was administered intragastrically at a dose of 0.5 ml (8 IU), Enoxaparin sodium was injected subcutaneously 10 mg/kg/day: 0.2 mg/mouse. There were 3 groups of animals: group 1 – control (15 animals), on the first day of the experiment, 10 mg/kg of thromboplastin was once injected in the tail vein; group 2 – 15 animals, on the first day of the experiment, intragastric introduction of Trombovazim at a dose of 350 U/kg and subcutaneous injection of Enoxaparin at a dose of 10 mg/kg, after 4 hours, 10 mg/kg of thromboplastin was once injected into the tail vein; group 3 – 15 animals, on the first day, subcutaneous injection of Enoxaparin at

a dose of 10 mg/kg, after 4 hours, 10 mg/kg of thromboplastin was once injected into the tail vein. Four animals were reported to have died in the control group: three within 30 minutes after the administration and one 24 hours after the introduction of thromboplastin. No mouse deaths were observed in group 2. In group 3, two animals were reported to have died 24 hours after the introduction of thromboplastin. Combined administration of low-molecular-weight heparin and oral thrombolytic prevents death in experimental pulmonary vessel thrombosis.
Keywords: *experimental pulmonary vessel thrombosis, Trombovazim, Enoxaparin sodium.*

В последние годы достигнуты большие успехи в профилактике и лечении тромботических заболеваний, но фактические результаты реальной клинической практики этой нозологической группы нельзя считать полностью удовлетворительными, поскольку имеет место быть и высокая летальность, и инвалидизирующие осложнения. Это является своего рода вызовом для экспериментальной и клинической фармакологии в части разработки новых лекарственных препаратов и высокоэффективных терапевтических схем для лечения тромботических заболеваний. Особенно остро эта проблема обозначилась в пандемию COVID-19, когда отмечается большое число локальных и системных венозных тромбозов у больных с респираторным дистресс-синдромом на фоне SARS-CoV-2 [1, 2]. В статье do Espírito Santo DA et al. [3] представлены результаты оценки сублингвальной микроциркуляции in vivo у тринадцати пациентов с тяжелой формой COVID-19, которым требовалась искусственная вентиляция легких. Авторы наблюдали множественные дефекты наполнения внутри микрососудов, свидетельствующие о тромбах в большинстве случаев – 11/13 (85%). Это первая визуализация тромбоза микрососудов у живых пациентов с тяжелой формой COVID-19.

Общеизвестно, что основой разработки новых методов лечения являются доклинические исследования на экспериментальных моделях. Моделью клеточного тромбоза для тестирования потенциальных антитромботических агентов, первично действующих на агрегацию тромбоцитов, является модель Di Minno G. [4]. Однако в этой модели формируется тромбоцитарный тромб, который не является патогномоничным в случае развития тромбоза легочных сосудов и не может считаться оптимальной фармакологической мишенью для воздействия антикоагулянтов и тромболитиков. Существует модификация этой экспериментальной модели, в которой образуется преимущественно фибриновый тромб. Системное тромбообразование вызывается внутривенным введением мышам тромбопластина в дозе 10 мг/кг [5]. Поскольку в «Руководстве по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [6] указана только модель системного тромбоцитарного тромбообразования по Di Minno G., авторы сочли возможным воспользоваться гибридной модификацией вышеуказанных моделей с обязательным морфологическим подтверждением факта системного тромбообразования и поражения сосудистой сети легких.

Цель исследования состояла в оценке эффективности сочетанного введения антикоагулянта и тромболитика для профилактики развития летального тромбоза сосудов легких.

Задачи исследования:

1. Установить параметры летальности лабораторных животных и морфологическую картину в сосудах легких при моделировании системного тромбоза внутривенным введением тромбопластина;
2. На модели системного тромбоза по параметрам летальности и морфологической картине в сосудах легких оценить эффективность антитромботического действия антикоагулянта Эноксапарин и сочетанного введения с тромболитиком Тромбовазим.

Материалы и методы

Объекты исследования. Тромбовазим представляет собой инновационный лекарственный препарат на основе протеолитических ферментов субтилизинов, иммобилизированных на полиэтиленоксиде. В России зарегистрирован в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда (лиофилизат для инфузии) и для лечения венозной недостаточности (капсулы для приема внутрь). Основой фармакодинамики Тромбовазима является прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас и прямое протеолитическое на клеточно-белковый детрит тромба. Энтеральная биодоступность Тромбовазима составляет 18%. Раствор фармацевтической субстанции Тромбовазима (растворитель NaCl 0,9%) вводился внутрижелудочно с помощью металлических зондов с оливой на конце. Приготовление раствора производилось в день эксперимента в максимально короткий срок перед введением. Объем на одно введение составил 0,5 мл (8 ЕД) из расчета 350 Ед/кг.

Эноксапарин натрия – широко известный антикоагулянт из группы низкомолекулярных гепаринов, применяется для лечения и профилактики тромботических заболеваний. Эноксапарин натрия вводился инъекционно подкожно. Доза препарата на каждое животное была 10 мг/кг/сутки – 0,2 мг/мышь. Для данного эксперимента были взяты ампулы с раствором для инъекций Эноксапарина натрия в готовой

лекарственной форме («Эниксум», ЗАО «ФармФирма «Сотекс», Россия) из расчета масса/объем: 40 мг – 0,4 мл (4000 анти-ХаМЕ). Ампула вскрывалась в день эксперимента в максимально короткий срок перед введением препарата. Из ампулы с использованием «инсулинового» шприца извлекалось 0,2 мл (20 мг) раствора Эноксапарина, вводилось в 100 мл р-ра NaCl 0,9% (полиэтиленовый флакон/контейнер) и осторожно перемешивалось без встряхивания. Каждому животному «инсулиновым» шприцем вводилось 0,2 мл (0,2 мг) подкожно.

Животные. Вид: Mus musculus. Линия/сток: мыши – CDI конвенциональной категории качества. Поставщик: отдел экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (имеется сертификат здоровья лабораторных животных). Возраст к началу введения: 7-8 недель. Масса к началу введения: 22–28 г. Количество мышей: 45 самцов. Животные содержались в отдельных комнатах вивария, принадлежащих лаборатории лекарственной токсикологии НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, и кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); ГОСТ 33216-2014 Межгосударственный стандарт. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами от 01.07.2016 г.; ГОСТ 33215-2014 Межгосударственный стандарт. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур от 01.07.2016 г.

Дизайн исследования. Экспериментальное сравнительное исследование в параллельных группах по выраженности антитромботического эффекта сочетанного введения лекарственных препаратов Тромбовазим и Эноксапарин натрия против введения только Эноксапарина. Было сформировано 3 группы животных: 1 группа – контрольная (15 животных). В первый день эксперимента предварительно наркотизированным животным в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг тромбопластина («Технология-стандарт», Россия). 2 группа – 15 животных. В первый день эксперимента животным было осуществлено интрагастральное введение через зонд лекарственного препарата Тромбовазим в дозе 350 Ед/кг и подкожная инъекция Эноксапарина в дозе 10 мг/кг. Через 4 часа (время достижения максимальной концентрации в крови Тромбовазима и Эноксапарина) предварительно наркотизированным животным в вену хвоста было однократно введено 10 мг/кг тромбопластина («Технология-стандарт», Россия). 3 группа – 15 животных. В первый день эксперимента животным была осуществлена подкожная инъекция Эноксапарина в дозе 10 мг/кг. Через 4 часа (время достижения максимальной концентрации Эноксапарина) предварительно наркотизированным животным в вену хвоста однократно вводилось 10 мг/кг тромбопластина («Технология-стандарт», Россия).

Определение параметров летальности проводилось в течение дня во все дни эксперимента в каждой экспериментальной группе. У погибших в течение исследования животных устанавливалось и документировалось время гибели с максимально возможной точностью. Морфологическая оценка тромботического процесса в легких была проведена у каждого животного, принявшего участие в эксперименте. У выживших животных эвтаназия была проведена на 11 сутки. Животные подвергались эвтаназии ингаляцией CO_2.

Извлечение легких для гистологического анализа производилось сразу после некропсии животных. Фиксированные ткани обезвоживали, пропитывали парафином и заливали в парафиновые блоки; с помощью микротома изготавливали тонкие серийные (не более 5 мкм) срезы и окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили исследование срезов с помощью световой микроскопии с оценкой и описанием состояния исследуемых тканей [7].

Результаты и обсуждение

Внутривенное введение тромбопластина привело к развитию системного тромбообразования с ярко выраженным тромбозом легочных сосудов у всех животных трех групп. В эксперименте установлены следующие параметры летальности:

1. В контрольной группе животных, которым вводили тромбопластин однократно внутривенно, отмечалась гибель четырех животных: трех самцов в течение 30 минут после введения и одного самца через 24 часа после введения тромбопластина.
2. В группе 2, где проводилось введение ЛП Тромбовазима однократно внутрижелудочно и ЛП Эноксапарина однократно подкожно, затем через 4 часа введение тромбопластина внутривенно однократно, гибели мышей не наблюдалось.
3. В группе 3, где проводилось введение ЛП Эноксапарина подкожно однократно, затем через 4 часа введение тромбопластина внутривенно однократно, отмечалась гибель двух животных через 24 часа после введения тромбопластина.

Осмотр погибших мышей не выявил существенных макроскопических различий между

животными из 1 и 3 групп. Легкие бледно-розовые, слегка вздуты, на поверхности во всех долях темно-красные очаги неправильной формы, размером 1–3 мм. В легких гиперемия, периваскулярные кровоизлияния, большое количество в основном красных тромбов в венах (рисунок 1).

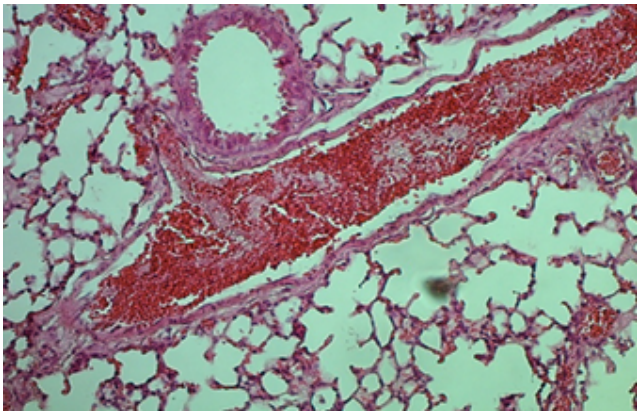


Рисунок 1 – Красный тромб в вене легкого. Мышь № 9, группа 1. Гибель. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение х200.

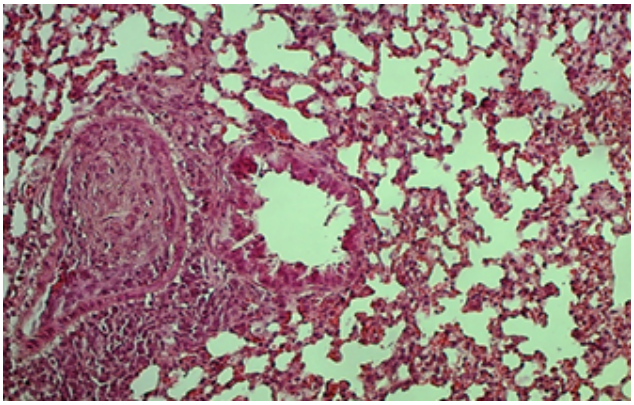


Рисунок 2 – Организация тромба в сосуде легкого. Мышь № 10, группа 1. Некропсия на 11 день эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение х200.

Таким образом, на основании макро- и микроскопического исследования погибших мышей можно считать, что основной причиной гибели животных явился тромбоз легочных сосудов.

При проведении некропсии всех выживших мышей не было обнаружено каких-либо различий в строении внутренних органов животных между исследуемыми группами. У всех животных легкие были светло-розовые с единичными темно-красными очагами неправильной формы, размером 1-2 мм, обнаружено полнокровие межальвеолярных капилляров и очаговые тромбозы, отмечались признаки организации тромбов, т.е. замещение соединительной тканью (рисунок 2).

Во всех группах встречались различных размеров инфаркты легких в стадии организации (рисунок 3).

В отдельных венах отмечались следы асептического аутолиза тромботических масс (рисунок 4).

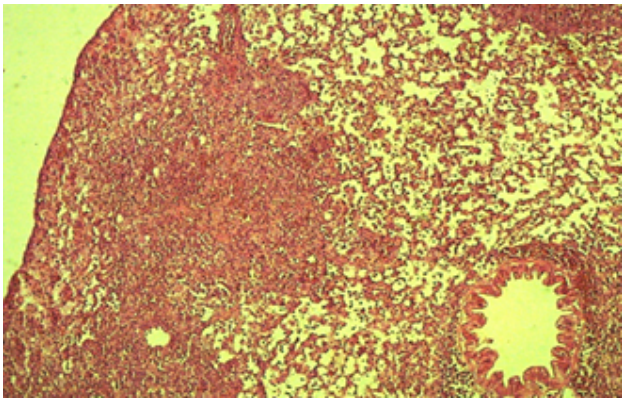


Рисунок 3 – Организация инфаркта легкого. Мышь № 8, группа 3. Некропсия на 11 день эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение х200.

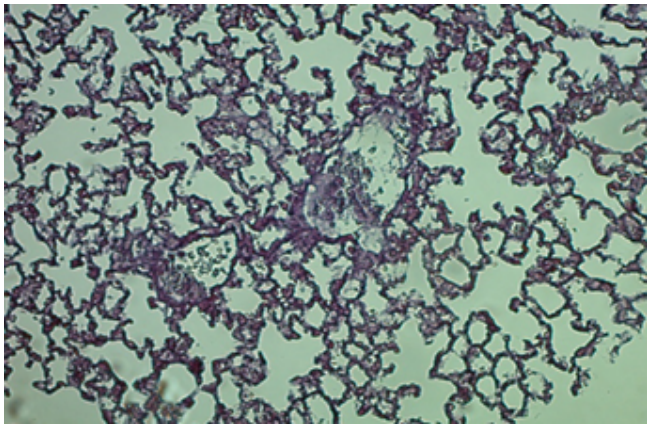


Рисунок 4 – Лизис тромба в вене легкого. Мышь № 5, группа 2. Некропсия на 11 день эксперимента. Окраска по И.П. Шуенинову на фибрин, увеличение х200.

При сравнении между группами исследуемых препаратов инфаркты реже встретились во 2 группе (группа животных, получавших совместно ЛП Тромбовазим и ЛП Эноксапарин) по сравнению с 3 группой (группа животных, получавших только ЛП Эноксапарин). Очевидно, что в проведенном эксперименте лучшие результаты по антитромботической активности демонстрирует сочетанное введение антикоагулянта и тромболитика. С одной стороны, это вполне ожидаемый факт, а с другой – это первые результаты применения прямого фибринолитика/тромболитика Тромбовазима с низкомолекулярным гепарином для ликвидации

легочного тромбоза.

Заключение

В данном эксперименте кроме параметров летальности невозможно установить другие статистически анализируемые величины, характеризующие развитие тромбоза и эффективность антитромботической терапии. Следует сказать, что и в клинических исследованиях тромботических заболеваний жесткими конечными точками являются показатели выживаемости и фатальных осложнений. Поэтому авторы склонны считать, что результаты эксперимента дают основания для продолжения исследований по отработке схем профилактического и лечебного введения Тромбовазима и низкомолекулярных гепаринов, установления их оптимального дозирования.

Результаты этих исследований послужат фундаментом для разработки медицинской технологии профилактики и лечения тромбоза легочных сосудов с использованием низкомолекулярных гепаринов и лекарственного препарата Тромбовазим, например, при коронавирусном остром дистресс-синдроме.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы:

1. Coccheri S. COVID-19: The crucial role of blood coagulation and fibrinolysis. *Intern. Emerg. Med*. 2020;15(8): 1369-1373. DOI: 10.1007/s11739-020-02443-8

2. Polak S.B., Van Gool I.C., Cohen D., von der Thüsen J.H., van Paassen J. A systematic review of pathological findings in COVID-19: a pathophysiological timeline and possible mechanisms of disease progression. *Mod. Pathol*. 2020;33(11): 2128-2138. DOI: 10.1038/s41379-020-0603-3

3. Espírito Santo D.A., Lemos A.C.B., Miranda C.H. In vivo demonstration of microvascular thrombosis in severe COVID-19. *J Thromb. Thrombolysis.* 2020;50(4): 790-794. DOI: 10.1007/s11239-020-02245-x

4. DiMinno G., Silver M.J. Mouse Antithrombotic Assay: A Simple Method for the Evaluation of Antithrombotic Agents in vivo. Potentiation of Antithrombotic Activity be Ethyl Alcohol. *J Pharmacol. Exp. Ther.* 1983;225(1): 57-60.

5. Баширова Л.И. Морфологическая оценка экспериментальной модели системного генерализованного тромбоза. *Морфологические ведомости*. 2020;28(2): 74-77. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(2):74-77

6. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Ч. 1. Москва: Гриф и К; 2013: 459.

7. Меркулов Г.А. *Курс патогистологической техники*. Ленинград: Медицина; 1969: 422.

References

1. Coccheri S. COVID-19: The crucial role of blood coagulation and fibrinolysis. *Intern. Emerg. Med*. 2020;15(8): 1369-1373. DOI: 10.1007/s11739-020-02443-8

2. Polak S.B., Van Gool I.C., Cohen D., von der Thüsen J.H., van Paassen J. A systematic review of pathological findings in COVID-19: a pathophysiological timeline and possible mechanisms of disease progression. *Mod. Pathol*. 2020;33(11): 2128-2138. DOI: 10.1038/s41379-020-0603-3

3. Espírito Santo D.A., Lemos A.C.B., Miranda C.H. In vivo demonstration of microvascular thrombosis in severe COVID-19. *J Thromb. Thrombolysis.* 2020;50(4): 790-794. DOI: 10.1007/s11239-020-02245-x

4. DiMinno G., Silver M.J. Mouse Antithrombotic Assay: A Simple Method for the Evaluation of Antithrombotic Agents in vivo. Potentiation of Antithrombotic Activity be Ethyl Alcohol. *J Pharmacol. Exp. Ther.* 1983;225(1): 57-60.

5. Bashirova L.I. The morphological evaluation of the experimental model of systemic generalized thrombosis. *Morphological Newsletter.* 2020;28(2): 74-77. (In Russ.) DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(2):74-77

6. Mironov A.N. *Guidelines for conducting preclinical trials of drugs.* P. 1. Moscow: Grif i K; 2013: 459. (In Russ.)

7. Merkulov G.A. *Course of pathohistological technique*. Leningrad: Medicina; 1969: 422. (In Russ.)

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Мадонов Павел Геннадьевич, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины Новосибирского государственного медицинского университета, г. Новосибирск.
630075, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.
Тел.: +79133798303.
E-mail: pmadonov@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0002-1093-8938

Информация об авторах

Ершов Константин Игоревич, к.б.н., доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины Новосибирского государственного медицинского университета, г. Новосибирск.
630075, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.
Тел.: +7 (383) 2360902.
E-mail: kaffarm@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0003-41399-0360

Мишенина Светлана Владимировна, к.м.н., доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины Новосибирского государственного медицинского

университета, г. Новосибирск.
630075, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.
Тел.: +7 (383) 2360902.
E-mail: m-svetlana@ngs.ru
https://orcid.org/0000-0001-8377-7648

Байкалов Герман Игоревич, аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины Новосибирского государственного медицинского университета, г. Новосибирск.
630075, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.
Тел.: +7 (383) 2360902.
E-mail: kaffarm@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0002-5445-9920

Чурин Алексей Александрович, д.м.н., заведующий отделом лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375.
E-mail: pharm@tnimc.ru
https://orcid.org/0000-0002-6088-7286

Фёдорова Елена Павловна, к.м.н., научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375.
E-mail: pharm@tnimc.ru
https://orcid.org/0000-0001-6788-964X

Фомина Татьяна Ивановна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375.
E-mail: pharm@tnimc.ru
https://orcid.org/0000-0002-9863-9464

Филонова Мария Васильевна, лаборант-исследователь лаборатории лекарственной токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375.
E-mail: pharm@tnimc.ru

Удут Владимир Васильевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной и лечебной работе, заведующий лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, г. Томск.
634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.
Тел.: (3822) 418375.
E-mail: pharm@tnimc.ru
https://orcid.org/0000-0002-3829-7132

Поступила в редакцию 29.03.2021
Принята к публикации 09.04.2021

Для цитирования: Мадонов П.Г., Ершов К.И., Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Чурин А.А., Фёдорова Е.П. и др. Антитромботические эффекты сочетания антикоагулянта и тромболитика в условиях поражения сосудистого русла легких при моделировании системного тромбоза. *Бюллетень медицинской науки*. 2021;1(21): 88–93.

Citation: Madonov P.G., Ershov K.I., Mishenina S.V., Baikalov G.I., Churin A.A., Fedorova E.P. et al. Antithrombotic effects of combination of anticoagulant and thrombolytic in conditions of lesion of the pulmonary vascular bed in modeling systemic thrombosis. *Bulletin of Medical Science*. 2021;1(21): 88–93. (In Russ.)