

Место препаратов гиалуроновой кислоты в терапии остеоартроза

Балабанова Р.М.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия
115522, Москва, Каширское шоссе, 34А

Представлены данные о позитивной роли препаратов гиалуроновой кислоты (ГЛК) при лечении остеоартроза (ОА) коленных и тазобедренных суставов. Клинический эффект при внутрисуставном введении препаратов обусловлен их не только любрикативным, но и в большей степени противовоспалительным и хондропротективным действием. Длительные курсы ГЛК позволяют замедлить риск эндопротезирования сустава при ОА.

Ключевые слова: остеоартроз; гиалуроновая кислота; гилан G-F 20.

Контакты: Римма Михайловна Балабанова; balabanova@irramn.ru

Для ссылки: Балабанова Р.М. Место препаратов гиалуроновой кислоты в терапии остеоартроза. Рациональная фармакотерапия. Современная ревматология. 2014;(3):73–76.

Place of hyaluronic acid preparations in therapy for osteoarthritis

Balabanova R.M.

*V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia
34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522*

The paper gives data on the positive role of hyaluronic acid (HA) preparations in the treatment of knee and hip osteoarthritis (OA). The clinical effect of intraarticular agents is not only due to their lubricative, but also, to a greater degree, anti-inflammatory and chondroprotective activities. The efficacy of HA preparations do not practically depend on their molecular weight. Long-term HA cycles can delay the risk of joint replacement in OA.

Key words: osteoarthritis; hylan G-F 20.

Contact: Rimma Mikhailovna Balabanova; balabanova@irramn.ru

For reference: Balabanova R.M. Place of hyaluronic acid preparations in therapy for osteoarthritis. Modern Rheumatology Journal. 2014;(3):73–76.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/2074-2711-2014-3-73-76>

Остеоартроз (ОА; син. остеоартрит) – наиболее распространенное ревматическое заболевание. В 2013 г. в России только по обращаемости в лечебные учреждения зарегистрировано более 14 млн больных ОА [1]. Если учесть, что это заболевание чаще поражает лиц старшей возрастной группы, а в России жителей пенсионного возраста более 20%, то истинная распространенность ОА значительно выше [2]. От начала болезни до обращения к врачу проходит немало времени, что в первую очередь обусловлено медленным развитием болезни [3]. ОА преимущественно поражает нагруженные диартрозные суставы – коленные, тазобедренные, однако и суставы кистей, особенно дистальные, вовлечены в патологический процесс.

Среди факторов, влияющих на прогрессирование ОА, выделяют возраст старше 45 лет, женский пол, наследственность, постменопаузу, предшествующую травматизацию сустава. Ряд факторов, имеющих отрицательное воздействие на хрящ, могут быть устранены самим пациентом. Это достигается путем снижения массы тела, повышения физической нагрузки, уменьшения нагрузки на проблемные суставы, дозированного ношения груза.

По мере изучения патогенеза болезни, внедрения новых методов диагностики стало ясно, что ОА характеризуется хроническим воспалением, при котором в патологический процесс вовлечены все компоненты сустава, включая синовиальную оболочку, хрящ, суставную капсулу, связки,

сухожилия, субхондральную кость. В литературе появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что изначально процесс начинается в результате хронического воспаления в синовиальной оболочке, субхондральной кости и связочном аппарате [4]. Воспаление в этих структурах приводит к развитию синовита, остита, энтезитов, что подтверждается результатами диагностики с использованием магнитно-резонансной томографии (МРТ). Исход воспаления завершается формированием остеофитов и деструкцией суставной поверхности. Первым симптомом, заставляющим пациента обратиться к врачу, является боль, усиливающаяся при ходьбе, спуске по лестнице, и так называемая стартовая боль, возникающая после длительного сидения или отдыха.

Европейской антиревматической лигой (EULAR) и Международным обществом по изучению остеоартрита (OARSI) разработаны рекомендации по лечению ОА, которые включают нефармакологические, фармакологические и хирургические методы лечения [5].

Учитывая, что у больных ОА имеется достаточно большое число заболеваний, требующих приема гипотензивных, сахароснижающих и других препаратов, при выборе схемы лечения этого заболевания необходимо учитывать совместимость лекарственных средств, безопасность проводимой терапии.

Лечение ОА до настоящего времени остается сложной проблемой, основанной на комплексном индивидуальном

выборе тактики терапии в зависимости от локализации и распространенности ОА, выраженности клинических проявлений, деструкции сустава, функциональной активности пациента, наличия у него сопутствующих заболеваний.

Основные цели лечения ОА — уменьшение или купирование боли, улучшение функции сустава, улучшение качества жизни пациентов. Это достигается в первую очередь назначением быстродействующих симптоматических препаратов, к числу которых относятся парацетамол и нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Однако при приеме парацетамола длительно и/или в высоких суточных дозах он проявляет гепато- и нефротоксичность. НПВП широко применяются в ревматологии благодаря их анальгетическому и особенно противовоспалительному действию. При выборе НПВП у пожилых больных (а это большинство больных ОА) необходимо учитывать особенности фармакодинамики препарата, его совместимость с препаратами для лечения сопутствующих заболеваний, безопасность в плане возникновения нежелательных реакций, а также влияние на хрящ. Селективные ингибиторы циклооксигеназы 2 (ЦОГ2) — наиболее щадящие в отношении хрящевой ткани и лучше переносятся пожилыми пациентами, но при их приеме требуется особый мониторинг у лиц с факторами риска кардиоваскулярной патологии.

Основной группой средств для лечения ОА являются медленнодействующие симптоматические препараты, которые отсроченно уменьшают выраженность боли, но более эффективны с точки зрения хондропротективного действия. Наиболее изучено действие хондроитина сульфата (ХС), глюкозамина сульфата (ГС), которые являются естественными компонентами межклеточного вещества в хряще [6].

В многочисленных клинических исследованиях по применению ХС и ГС показано, что они оказывают не только обезболивающее и противовоспалительное, но и структурно-модифицирующее действие: стабилизируют ширину суставной щели, замедляют формирование эрозий, снижают риск эндопротезирования суставов [7].

Важная роль в патогенезе ОА отводится синовиальной жидкости (СЖ), которая по мере прогрессирования болезни теряет эластические и вязкостные свойства. В состав СЖ и внеклеточного матрикса входит гиалуронан (ГН), который в основном обеспечивает эластичность и вязкость СЖ, эластичность и пластичность суставного хряща, а также служит фильтром для продуктов деградации хряща и защищает болевые рецепторы синовию. По мере продолжительности ОА в 2–3 раза снижаются концентрация ГН в СЖ и его молекулярная масса (ММ), что приводит к нарушению функции СЖ и в итоге — к разрушению хрящевой пластины. В связи с этим возникла идея о создании инъекционных препаратов на основе натриевой соли гиалуроновой кислоты (ГЛК), которые служили бы лубрикантами.

Инъекции ГН впервые стали использовать в 60-е годы прошлого столетия в ветеринарии, был получен хороший эффект: уменьшение боли и улучшение функциональной подвижности сустава [8]. Первые результаты использования ГН при ОА показали значительное улучшение функции пораженных суставов [9]. С 2000 г. препараты ГЛК включены в рекомендации по лечению ОА крупных суставов.

Получают ГЛК несколькими способами: экстрагированием из петушиных гребешков; бактериальной ферментацией (ГЛК неживотного происхождения); способом бисинтеза стабилизированной ГЛК (NASHA).

Исследования показали, что эффект ГЛК обусловлен не только лубрикативным действием, так как после инъекции ГН достаточно быстро удаляется из сустава, а эффект сохраняется еще долго после прекращения лечения. Дальнейшие исследования продемонстрировали, что в регуляции экспрессии и функции ГН задействованы три гена из семейства ГН-синтетазы, контролирующие синтез ГН с ММ 200 или 2000 кДа. Образующиеся ГН связываются друг с другом во внеклеточной жидкости под воздействием ГН-связывающих белков — гиаладгеринов, содержание которых в молекуле ГН может достигать до 200 молекул, связанных с каждой цепью. Связывание ГН на поверхности клеток представляет собой взаимодействие сложных мультвалентных процессов, на которые оказывают влияние размеры молекулы поливалентного ГН-лиганда, плотность и активация поверхностных CD44 [10] и CD54 [11].

В исследованиях Р. Ghosh и соавт. [12, 13] показано, что синтез протеогликанов в хрящах оперированных суставов при применении ГН с ММ 840 кДа ниже, а высвобождение — выше по сравнению с плацебо. По данным морфологического исследования, проведенного на оперированных кроликах с использованием ГН с ММ 2020 или 950 кДа, оба препарата предотвращали потерю хрящевой ткани, но преимущество имел первый препарат [14]. Еще в одном исследовании с использованием четырех ГН (с ММ 500, 840, 3600, 6000 кДа) было выявлено, что у ГН с более высокой ММ защитный эффект в отношении хрящевой и синовиальной ткани более выражен [15]. Экзогенные препараты ГЛК имеют различный период полувыведения — от нескольких часов до нескольких суток. Высокомолекулярный гилан В в составе синвиска имеет период полувыведения несколько недель [16]. Исследования с меченым ГН показали, что он выводится из полости сустава в три этапа с периодами полувыведения 1,5 ч, 1,5 сут, 4 нед [17]. Опубликовано достаточное число работ, в которых указывается, что внутрисуставное введение ГЛК оказывает не только анальгетический, но и болезньюмодифицирующий эффект.

Биологическая активность внутрисуставной формы ГЛК проявляется угнетением активности матриксных металлопротеиназ, интерлейкина 1 β и других активных молекул, участвующих в деградации хряща и субхондральной кости [18].

В России имеется несколько препаратов ГЛК для внутрисуставного введения (см. таблицу).

Клиническую эффективность внутрисуставного введения препаратов ГЛК с различной ММ оценивали в многочисленных клинических исследованиях и реальной практике. Снижение интенсивности боли при ОА на фоне терапии препаратами ГЛК представлено в нескольких обзорах и метаанализах [19–23].

В рандомизированном многоцентровом исследовании, в котором проспективно оценивали эффективность и переносимость внутрисуставного введения гилана G-F 20 и триамцинолона гексацетонида, было показано, что обезболивающий эффект глюкокортикоида (ГК) достигал максимального значения к 1–2-й неделе и снижался в по-

О Б З О Р Ы

Препараты ГЛК с различной ММ

| Препарат | ММ, кДа |
|------------------------|-----------|
| Синвиск (гилан G-F 20) | 6000 |
| Гиалган | 500–730 |
| Дьюралан | 1013 |
| Синохром | 1600–2100 |
| Остенил | 1200–1400 |

следующем. Однако у пациентов, получавших гилан G-F 20, клинически значимое улучшение по данным шкалы WOMAC A достигало максимальных значений к 12-й неделе и сохранялось до 26-й недели, превосходя обезболивающий эффект ГК. Аналогичная картина наблюдалась и при оценке функционального состояния опорно-двигательного аппарата согласно данным шкалы WOMAC C: при использовании гилана G-F 20 эффект нарастал медленнее, но удерживался значительно дольше, чем при терапии ГК [24].

Добавление к стандартной терапии ОА внутрисуставных инъекций гилана G-F 20 приводило к уменьшению приема НПВП на 18%, а внутрисуставного введения ГК на 80% [25].

При сравнении гилана G-F 20 (ММ 6000 кДа) с гиалуронатом натрия (ММ 800 кДа) оказалось, что высокомолекулярный препарат обладал более выраженным эффектом [26]. При ретроспективном сравнении гилана G-F 20 с гиалуронатом натрия (ММ 615 кДа) было выявлено, что по анальгетическому эффекту препараты сопоставимы, но отмечается некоторое преобладание такого эффекта у синвиска [27]. Еще одно проспективное годичное исследование с большим количеством пациентов (n=199) проведено для сравнения гилана G-F 20 и гиалгана [28]. Показано, что по индексу WOMAC (боль, физическая активность), индексу EQ-5D эффект гилана G-F 20 отмечался уже к 6-й неделе и сохранялся до конца наблюдения. Различия в эффективности препаратов были достоверными.

При сравнении эффекта трехразового введения гилана G-F 20 и однократного введения ГК триамцинолона гексаацетонида у больных гонартрозом (n=218) результаты по

шкале боли и функциональной активности (индекс WOMAC), а также оценка общего состояния пациентом и врачом по визуальной аналоговой шкале свидетельствовали о более длительном и стабильном эффекте гилана G-F 20. Внутрисуставное введение ГК дало быстрый, но не длительный эффект [29].

Чрезвычайно важен вопрос о возможности ГЛК затормозить прогрессирование ОА. В эксперименте на кроликах в 90-е годы XX в. было показано сберегающее действие на хрящ ГН с различной ММ [14, 15]. По данным рентгенологического обследования большой группы пациентов с ОА (n=273), леченных гиалганом, через 1 год у пациентов с I–II стадией отмечено замедление прогрессирования по величине суставной щели, в то же время при более продвинутых стадиях такого эффекта не выявлено [30]. В 2-летнем наблюдении у пациентов с ОА, получавших терапию гиланом G-F 20, отмечена меньшая по сравнению с контролем потеря хряща в большеберцовой кости по данным МРТ [31].

Профиль переносимости препаратов ГЛК достаточно изучен: системные эффекты отсутствуют, лекарственные взаимодействия малочисленны. В большинстве исследований из нежелательных реакций (НР) отмечена боль в месте инъекций [32]. Необходимо помнить, что любой препарат следует вводить внутрисуставно только после купирования синовита, что позволит предупредить развитие осложнений. Повторные курсы гилана G-F 20, по данным A. Migliori и соавт. [33], могут снизить риск артропластики тазобедренных суставов.

Препараты ГЛК продемонстрировали в эксперименте и клинической практике не только лубрикативный эффект, но и благотворное влияние на подавление воспаления при ОА. Эффект внутрисуставного введения препаратов ГЛК длительный. Внутрисуставное введение препаратов ГЛК показано пациентам, у которых имеются противопоказания для назначения НПВП, как неселективных, так и селективных, потеря эффекта или развитие НР, а также пациентам, у которых течение ОА осложнено коморбидностью, учитывая совместимость препаратов ГЛК с другими лекарственными средствами. Необходимы многочисленные длительные исследования для подтверждения структурно-модифицирующего действия препаратов ГЛК у пациентов с различными стадиями ОА.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Заболеваемость взрослого населения России в 2013 г. Доступ по ссылке: <http://www.rosminzdrav.ru/open/usefull/stat>. [Zabolevaemost' v zroslogo naseleniya Rossii v 2013 g. [Incidence of adult population of Russia in 2013]. Available from: <http://www.rosminzdrav.ru/open/usefull/stat>]
2. Эрлес ШФ, Галушко ЕА, Бахтина ЛА и др. Распространенность артралгий и припухания суставов у жителей разных регионов РФ. Научно-практическая ревматология. 2004;(4):42–6. [Erdes ShF, Galushko EA, Bakhtina LA, et al. Joint pain and swelling prevalence in residents of different regions of Russian Federation (preliminary results). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2004;(4):42–6. (In Russ.)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2004-801>.
3. Kirwan JR, Elson CJ. Is the progression of osteoarthritis phasic? Evidence and implications. *J Rheumatol*. 2000;27(4):834–6.
4. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(11):625–35. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2010.159>.
5. Hochberg MC, Altman RD, April KT, et al. ACR 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(4):465–74. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/acr.21596>.
6. Алексеева ЛИ. Симптоматические препараты замедленного действия при лечении остеоартроза. *Consilium medicum*. 2009;11(9):100–4. [Aleksееva LI. Symptomatic preparations of the slowed-down action at osteoarthritis treatment. *Consilium medicum*. 2009;11(9):100–4. (In Russ.)]
7. Dougades M, Nguen M, Berdah L, et al. Evaluation of the structure-modifying effects of Diacerhein in hip osteoarthritis. ECHODIAN, a three-year-placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*. 2001;44(11):2539–47. DOI: [http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131\(200111\)44:11%3C2539::AID-ART434%3E3.0.CO;2-T](http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131(200111)44:11%3C2539::AID-ART434%3E3.0.CO;2-T).

8. Rydell NW, Butler J, Balazs EA. Hyaluronic acid in synovial fluid. VI Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of arthritis in track horses. *Acta Vet Scand.* 1970;11(2):139–55.
9. Rydell NW, Balazs EA. Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of osteoarthritis and granulation tissue formation. *Clin Orthop Relat Res.* 1971;(80):25–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00003086-197110000-00006>.
10. Lesley J, Hascall VC, Tammi M, et al. Hyaluronan binding by cell surface CD 44. *J Biol Chem.* 2000;275(35):26967–75.
11. Corrado EM, Peluso GF, Gigliotti S, et al. The effects of intraarticular administration of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee: a clinical study with immunological and biochemical evaluations. *Eur J Rheum Infl.* 1995;(150):47–56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1679/aohc.61.125>.
12. Ghosh P, Read R, Numata Y, et al. The effect of intraarticular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep. Gait analysis, radiological and morphological studies. *Semin Arthritis Reum.* 1993;22(6 Suppl 1):18–30. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0049-0172\(10\)80016-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0049-0172(10)80016-2).
13. Ghosh P, Read R, Numata Y, et al. The effect of intraarticular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep. Cartilage composition and proteoglycan metabolism. *Semin Arthritis Reum.* 1993;22(6 Suppl 1):31–42.
14. Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthritis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;(298):296–304.
15. Shimizu C, Kubo T, Hirasawa Y, et al. Histomorphometric and biochemical effect of various hyaluronans on early osteoarthritis. *J Rheum.* 1998;25(9):1813–9.
16. Wobig M, Dickhut A, Maler R, et al. Viscosupplementation with hylan G-F 20: a 26-week controlled trial of efficacy and safety in the osteoarthritic knee. *Clin Ther.* 1998;20(3):410–23. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-2918\(98\)80052-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-2918(98)80052-0).
17. Lindquist U, Tolmachev V, Kairemo K, et al. Elimination of stabilized hyaluronan from the knee joint in healthy men. *Clin Pharmacocinet.* 2002;41(8):603–13. DOI: <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-200241080-00004>.
18. Takahashi K, Goomer RS, Harwood F, et al. The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-1 β (IL-1 β), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene expression during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999;7(2):182–90. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/joca.1998.0207>.
19. Maheu E, Ayral X, Dougados M. A hyaluronan preparation (500-730 kDa) in the treatment of osteoarthritis: a review of clinical trials with Hyalgan. *Int J Clin Pract.* 2002;56(10):804–13.
20. Wang CT, Lin J, Chang CJ, et al. Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. A meta-analysis of randomised controlled trials. *J Bone Joint Surg Am.* 2004;86-A(3):538–45.
21. Lo GH, LaValley M, McAlindon T, Felson DT. Intraarticular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: A meta-analysis. *JAMA.* 2003;290(23):3115–21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.290.23.3115>.
22. Bellamy N, Campbell J, Robinson V, et al. Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD005321.
23. Алексеева ЛИ, Шаропова ЕП, Зайцева ЕМ и др. Результаты многоцентрового годичного исследования препарата Дьюралан. Эффективная фармакотерапия. 2011;(37):50–7. [Alekseeva LI, Sharopova EP, Zaitseva EM, et al. Results of multicenter year research of a preparation Dyyuralan. *Effektivnaya farmakoterapiya.* 2011;(37):50–7. (In Russ.)]
24. Caborn D, Rush J, Lanzer W, et al. A randomized, single-blind comparison of the efficacy and tolerability of hylan G-F 20 and triamcinolone hexacetonide in patients with osteoarthritis of the knee. *J Rheum.* 2004;31:333–43.
25. Raynauld JP, Torrance GW, Band PA, et al. A prospective, randomized, pragmatic, health outcomes trial evaluating the incorporation of hylan G-F 20 into the treatment paradigm for patients with knee osteoarthritis (Part 1 of 2): clinical results. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2002;10(7):506–517.
26. Wobig M, Bach G, Beks P, et al. The role of elastoviscosity in the efficacy of viscosupplementation for osteoarthritis of the knee: a comparison of hylan G-F 20 and a lower-molecular-weight hyaluronan. *Clin Ther.* 1999;21(9):549–62. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-2918\(00\)80010-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-2918(00)80010-7).
27. Pritchard CH, Sripada P, Bankes P, et al. A retrospective comparison of the efficacy and tolerability of sodium hyaluronate and hylan G-F 20 in the treatment of osteoarthritis of the knee. *J Musculoskelet Res.* 2002;(6):197–205. DOI: <http://dx.doi.org/10.1142/S021895770200085X>.
28. Raman R, Duta A, Day N, et al. Efficacy of Hylan G-F 20 and Sodium Hyaluronate in the treatment of osteoarthritis of the knee – a prospective randomized clinical trial. *Knee.* 2008;15(4):318–24. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.knee.2008.02.012>.
29. Caborn D, Rush JL, Lanzer W, et al. A randomised single blind comparison of the efficacy and tolerability of Hylan G-F 20 and triamcinolone hexaacetonide in patients with osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol.* 2004;31(2):333–43.
30. Jubb RW, Piva S, Beinat L, et al. A one-year, randomised, placebo(saline) controlled trial of 530-700 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) on the radiological change in osteoarthritis of the knee. *Int J Clin Pract.* 2003;57(6):467–74.
31. Wang Y, Hall S, Hanna F. Effect of hylan G-F 20 supplementation on cartilage preservation detected by magnetic resonance imaging in osteoarthritis of the knee: a two-year single-blind clinical trial. *BMS Musculoskelet Disord.* 2011;(12):195–203. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2474-12-195>.
32. Goldberg VM, Coutts RD. Pseudo-septic reaction to hylan viscosupplementation: diagnosis and treatment. *Clin Orthop.* 2004;(419):130–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00003086-200402000-00021>.
33. Migliori A, Bizzi E, Massafra U, et al. The impact of treatment with Hylan G-F 20 on progression to total hip arthroplasty in patients with symptomatic hip osteoarthritis: a retrospective study. *Curr Med Res Opinion.* 2012;28(5):755–60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1185/03007995.2011.645563>.

Исследование не имело спонсорской поддержки. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Окончательная версия рукописи была одобрена автором.