

© Коллектив авторов, 2003

Н. П. Мищенко¹, С. А. Федорев¹, В. Л. Багирова²

НОВЫЙ ОРИГИНАЛЬНЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ГИСТОХРОМ™

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток;

² Институт стандартизации лекарственных средств, Москва

Среди биологически активных веществ природного происхождения особый интерес представляют вторичные метаболиты морских организмов. Морские организмы имеют более глубокое прошлое, более длинный путь эволюции и адаптации, обитают в сильно отличающейся среде по сравнению с сухопутными организмами. Все это нашло отражение в особенностях биосинтеза и метаболизма, приводящих к структурному своеобразию биологически активных веществ в морских организмах по сравнению с наземными животными и растениями.

Морские ежи, в больших количествах входящие в состав морских биоценозов, используемые народами азиатско-тихоокеанского региона как промысловые объекты, являются богатым источником уникальных веществ. К таким веществам относятся хиноидные пигменты панцирей и игл — спинохромы [1], у которых обнаружена высокая антиоксидантная активность [2, 3].

Более детальные исследования выявили ценную особенность спинохромов — множественность механизмов, по которым они способны осуществлять свое антиокислительное действие: перехват кислородных радикалов, взаимодействие с радикалами липопероксидов, хелатирование металлов — катализаторов пероксидации; синергизм с фосфолипидами плазматических мембран, способность регулировать активности некоторых ферментов, во многом определяющих окислительный статус клеток организмов [2, 4–7]. Все это выделяет хиноидные пигменты морских ежей среди известных биоантиоксидантов как перспективные для создания на их основе новых лекарственных препаратов для лечения широкого спектра патологий.

Наибольшая активность среди всех спинохромов была обнаружена у эхинохрома — 2,3,5,6,8-пентагидрокси-7-этилнафтохинона-1,4. В отличие от основных эндогенных антиоксидантов (витамина Е и убихинона) эхинохром способен нейтрализовать основные инициаторы неферментативного процесса окисления мембранных липидов — катионы железа, накапливающиеся в зоне ишемического повреждения ткани [8]. Эхинохром стабилизирует мембраны эритроцитов, снижает уровень холестерина в крови и обладает антимикробными свойствами [9].

Природный липофильный эхинохром является активной субстанцией созданного в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО РАН нового водорастворимого антиоксидантного препарата гистох-

ром [10, 11]. Гистохром® является оригинальным отечественным препаратом, изучение которого началось лишь десять лет назад. Настоящая статья — первая попытка обобщить результаты его исследований.

Экспериментальные исследования

При экспериментальном изучении гистохрома на животных получены результаты, свидетельствующие о способности препарата ограничивать реперфузионные повреждения в остром опыте при моделировании инфаркта миокарда (ИМ) у собак [12, 13] и о влиянии на сократительную способность сердца крыс при “кальциевом парадоксе” [14], при экспериментальных ожогах и гемофтальмах [15, 16].

Гистохром, введенный животным после каротидно-коронарного шунтирования через 5 мин после начала ишемии и за 5 мин до реперфузии в дозе 1 мг/кг, уменьшал размер инфаркта миокарда (ИМ) по сравнению с его величиной в контрольной группе животных на 50 % [13].

Обнаружено влияние гистохрома на морфологическую картину зоны некроза. У животных, которым перед началом реперфузии вводили гистохром, ИМ состоял преимущественно из многочисленных небольших очагов некроза, расположенных во внутренней трети стенки левого желудочка, окруженных жизнеспособной тканью. Ни в одном случае некротическая зона не достигала наружной поверхности левого желудочка. В то же время в контрольной группе некротический очаг имел четкие ровные контуры и распространялся на 1/2 – 2/3 толщины стенки левого желудочка, а в отдельных случаях был трансмуральным [13].

Различия наблюдались и в частоте, и в выраженности геморрагии в некротической зоне. Если у собак контрольной группы участки геморрагии были гомогенными, занимали до 1/3 площади ИМ, то при использовании гистохрома они встречались значительно реже и определялись в виде мелких очажков на субэндокардиальной поверхности левого желудочка [13].

Ограничение реперфузионного повреждения у животных сопровождалось достоверно более быстрым по сравнению с контролем снижением суммарного подъема сегмента ST. При введении гистохрома (в дозе 1 и 3 мг/кг) уже через 10 – 30 мин после реперфузии ST уменьшался вдвое, в то время как у животных контрольной группы снижение до 50% от исходного занимало в среднем 3 ч [12, 13].

Известно, что повреждение кардиомиоцитов при “кальциевом парадоксе” сопровождается накоплением продуктов перекисного окисления липидов. Это приводит к повреждению мембран, разобщению окисления и фосфорилирования, нарушению процессов выработки энергии в митохондриях. В модели “кальциевого парадокса” на изолированном сердце крыс при предварительном введении гистохрома показана его способность уменьшать разрушение кардиомиоцитов, которую оценивали по снижению выхода миоглобина в перфузат. Введение гистохрома позволяет сохранять запасы макроэргических веществ (АТФ, АДФ) и способствует сохранению скорости свободного и фосфорилирующего дыхания, скорости фосфорилирования на уровне, близком к уровню этих показателей в интактном сердце [14]. На экспериментальных ожогах глаз и гемофтальмах установлены эффективность и преимущества гистохрома как по сравнению с контролем, так и с синтетическим антиоксидантом эмоксипином [17].

Фармакокинетика. Гистохром выпускается в виде 1 % и 0,02 % растворов для инъекций [10, 11], поэтому все его исследования проводились при прямом введении в системный кровоток. Для определения фармакокинетических характеристик препарат в дозе 100 мг вводили больным с острым ИМ однократно внутривенно. В плазме крови наблюдается нестандартный ход кривой концентрация – время, где вслед за резким снижением концентрации отмечается дополнительный подъем в интервале 2 – 6 ч. Причиной такого хода концентрационной кривой может быть энтерогепатическая рециркуляция препарата, т.е. экскреция с желчью и повторное всасывание в кишечнике [18, 19].

Особенностью кинетики гистохрома является и то, что через 12 ч после внутривенного введения концентрация препарата в плазме снижается почти вдвое, а затем длительно держится почти на одном уровне. Возможно, более быстрая элиминация происходит из крови и хорошо перфузируемых органов, а медленная — из тканей “периферической камеры” [18]. Основной путь выведения препарата – почки, гистохром выводится в виде метаболитов, которые интенсивно окрашивают мочу в темно-красный цвет [20].

Антиоксидантный эффект гистохрома. Продукция свободных радикалов в миокарде, превышающая способность кардиомиоцитов по их нейтрализации, является важной причиной возникновения реперфузионного повреждения. На ранних стадиях реперфузии активация ПОЛ носит взрывной характер, и концентрация продуктов перекисного окисления липидов возрастает более чем в 3 – 4 раза [20 – 23].

Большинство клинических исследований, проведенных с использованием различных методов определения маркеров перекисидации, демонстрируют способность гистохрома ослаблять активацию перекисного окисления липидов в реперфузионный период [20 – 23].

Определялась динамика активности процессов ПОЛ анализом концентрации малонового диальдегида

(МДА) в сыворотке крови при реперфузии ишемизированного миокарда. У пациентов, леченных гистохромом, пик концентрации МДА был значительно меньшим, чем в контрольной группе ($4,36 \pm 1,01$ мкмоль/л против $13,24 \pm 0,56$ мкмоль/л; $p < 0,001$), и различие сохранялось на протяжении 3 сут. Антиоксидантная защита ишемизированного миокарда гистохромом смещала время наступления пика концентрации МДА к концу первых суток ИМ, тогда как в контрольной группе он регистрировался к 6 ч периода реоксигенации [20].

У больных нестабильной стенокардией (НСК), получавших гистохром, достоверно установлено снижение содержание флюоресцирующих продуктов ПОЛ в плазме крови на 39 % и 46,8 %, и в эритроцитах на 48 % и 50,5 % по сравнению с исходным при расчете на 1 мг липидов и на 1 мл среды соответственно [21].

Включение гистохрома в комплекс предоперационной подготовки при выполнении аортокоронарного шунтирования больным ишемической болезнью сердца также способствовало уменьшению концентрации продуктов перекисного окисления липидов. Уровень МДА в плазме венозной крови снижался уже на этапе подключения АИКа и не изменялся до окончания искусственного кровообращения. Через 24 ч концентрация МДА в крови пациентов возвращалась к исходному уровню, оставаясь при этом на 113 % ниже, чем в контрольной выборке [22].

Пиковые значения таких биохимических маркеров ПОЛ, как диеновые конъюгаты и ТБК-реактивные субстанции, были достоверно ниже при профилактическом внутривенном введении гистохрома больным ИБС в периоперационный период в сравнении с контролем [23].

Кардиопротективный эффект. По результатам прекардиального картирования ЭКГ при однократном введении гистохрома за 10 мин до начала тромболитической терапии у больных ОИМ в период от 6 до 12 ч после начала антиоксидантной терапии выявлено ограничение зоны некроза на 55 % по сравнению с контролем. Протективное действие гистохрома у больных ОИМ составляет более 24 ч, но через 48 ч после лечения достоверных различий между показателями контрольной и основной групп уже не отмечалось [18]. Этот факт, вероятно, обусловлен тем, что кардиопротекторное действие гистохрома при однократном введении ограничивается только 1 – 2 сутками, что согласуется с фармакокинетическими данными.

Марков с сотр. [20] также отмечают кратковременное активное влияние гистохрома на процессы реперфузионного повреждения при тромболитической терапии у больных острым ИМ. У пациентов, которым вводили гистохром величина Σ SR сохранялась в большей мере ($41,7 \pm 8,8$ мм² против $13,9 \pm 4,6$ мм² у больных контрольной группы; $p < 0,001$), а Σ SQQS была меньше ($7,3 \pm 1,1$ и $11,8 \pm 1,7$ мм² соответственно; $p < 0,05$). Такая динамика указывала на большее сохранение жизнеспособного миокарда в основной

группе. Тем не менее, к концу 1-х суток эти различия нивелировались.

Величина площади поражения левого желудочка по QRS-индексу была меньше у пациентов, которым перед тромболизисом вводили гистохром ($14,7 \pm 2,2\%$ против $22,5 \pm 2,8\%$ в контроле; $p < 0,05$). Это различие сохранялось лишь до конца 2-х суток заболевания [20].

Активность КФК, специфического маркера повреждения миокарда, не отличалась [20] или была достоверно ниже [18, 22] у больных ОИМ, получавших гистохром, по сравнению с контролем, но все исследователи отмечают, что достижение максимального пика его активности происходило значительно позже ($25 - 32$ ч против $13 - 16$ ч в контрольной группе) [18, 20].

При введении гистохрома в составе кардиоплегического раствора больным ИБС в реперфузионном периоде АКШ активность миокардиальной креатинфосфокиназы (КФК-МВ) на пике активности в среднем была в 2,7 раза больше исходной величины, но в 3 раза меньше, чем в контрольной группе [23].

Антиаритмический эффект. Применение гистохрома у больных ИМ перед открытием коронарной артерии в 5 раз по сравнению с контролем уменьшало частоту возникновения и количество ($0,2 \pm 0,1$ против $6,5 \pm 1,5$ в контроле) желудочковых экстрасистол высоких градаций, и значительно сокращало время их существования в реперфузионном периоде [20].

Представляет интерес влияние гистохрома на время появления ускоренного идиовентрикулярного ритма, который служит достаточно надежным маркером коронарной реперфузии. В контрольной группе эпизоды этой аритмии выявлялись сразу после открытия коронарной артерии и сохранялись в течение 6 ч. У больных, получавших гистохром, эпизоды аритмии регистрировались существенно позже: с 12 по 17 ч реперфузионного периода [20].

Гистохром повышает эффективность хирургического лечения коронарной недостаточности при ИБС, при котором происходит вынужденное дополнительное ишемическое и реперфузионное повреждение сердца. Введенный за 18 ч до операции аортокоронарного шунтирования внутривенно в дозе 3 мг/кг и во время операции в составе кардиоплегического раствора (КПР) препарат гистохром положительно влияет на восстановительную сердечную деятельность после операции. У 42 % пациентов наблюдалось самостоятельное восстановление синусового ритма, у остальных больных более чем в 3 раза был снижен порог дефибрилляции, уменьшилось количество разрядов на эпизод, снизилась частота и тяжесть реперфузионных нарушений сердечного ритма [24].

Представляется актуальным исследование Афанасьева с сотр., показавших, что в период острой ишемии сердечной мышцы, в том числе и при операциях на "сухом сердце" у больных ИБС, гистохром оказывает выраженное АТФ-сберегающее действие, что явля-

ется дополнительным механизмом его кардиопротективного действия [25].

Изучение изменений показателей структурно-функционального состояния эритроцитов у больных ИСК под влиянием гистохрома выявило тенденцию к уменьшению времени фильтрации и повышению их электрофоретической подвижности. Сравнительный анализ изменений реологических свойств крови у больных ИСК под влиянием гистохрома и плацебо показал, что применение антиоксиданта приводит к более выраженному снижению агрегации эритроцитов (на 23,1 %; $p < 0,01$) и тромбоцитов (на 4,8 %, $p < 0,05$), т.е. гистохром оказывает антиагрегантное действие. Однако эти параметры уже через 10 дней после отмены гистохрома приблизились к исходным. На другие реологические свойства крови препарат ни сразу, ни по истечении 10 и 30 дней после его отмены существенно не влиял [21].

Гистохром успешно применяется в офтальмологической практике, как антиоксидантное средство при пролиферативных процессах, дегенерациях и гемофтальмах различного генеза [11].

Изучалась эффективность гистохрома в лечении гемофтальмов, возникших на фоне гипертонической болезни и сахарного диабета [26, 27].

Клинический эффект препарата зависел прежде всего от локализации, массивности и давности кровоизлияния в стекловидное тело и сетчатку [26 - 29].

Наибольшая терапевтическая эффективность гистохрома отмечена при лечении небольших кровоизлияний в передних отделах стекловидного тела. Острота зрения с коррекцией в этих случаях повысилась в среднем с $0,10 \pm 0,03$ до $0,64 \pm 0,02$ ($p < 0,001$) уже через 1 месяц после начала лечения. В этих случаях при ультразвуковом исследовании отмечалось уменьшение помутнений вплоть до полной акустической прозрачности стекловидного тела.

При более массивном кровоизлиянии (субтотальном гемофтальме) рассасывание гемофтальма и повышение остроты зрения наблюдалось только у 43,3 % пациентов в сроки от 1 до 3 месяцев. У больных повторными кровоизлияниями в стекловидное тело и сетчатку, при гипертонической болезни и тромбозе центральной вены сетчатки рассасывание гемофтальма и повышение остроты зрения отмечалось только в 21,5 % случаев. При этом резорбция кровоизлияний в стекловидном теле протекала более активно по сравнению с таковой при ретинальных геморрагиях [26, 27].

При лечении гифем препаратом гистохром практически у всех больных отмечалась положительная динамика: быстрое уменьшение имbibирования кровью ткани радужки, задней поверхности роговицы [29].

По данным электроретинографии, гистохром обладает выраженными ретинопротекторными свойствами. Препарат улучшает показатели электрофизиологических исследований при дегенеративных процессах сетчатки и зрительного нерва. Объективно наблюдались уменьшение отека, эпителизация дефектов у бо-

льных с дистрофическими заболеваниями роговицы, в 60 % случаев — повышение остроты зрения.

Антиоксидантные свойства препарата способствовали улучшению функций зрительного нерва и сетчатки у больных с непролиферативной формой диабетической ретинопатии, у которых после лечения гистохромом отмечалось повышение остроты зрения на 0,05 – 0,25 (в среднем $0,09 \pm 0,03$) [26].

В целом, положительный эффект при применении гистохрома отмечен у 90 – 100 % больных с гемофтальмами, из них выраженный — в более 70 % случаев [26, 28, 29].

Применение гистохрома в виде подконъюнктивальных инъекций и при инстилляциях в комплексе с гемодезом в 1,5 – 2 раза сокращает время отека стромы роговицы после удаления катаракты. Это позволяет при операции катаракты у пациентов избегать серьезных осложнений, переходящих в тяжелых случаях в эпителиально-эндотелиальную дистрофию [30]. Антиоксидант гистохром используют в качестве протектора при кератопластике [31].

Способы введения. В кардиологической практике 1 % раствора гистохрома вводится внутривенно болюсно или капельным путем в физиологическом растворе. Сравнительная оценка антиоксидантного и кардиопротекторного эффектов гистохрома при кардиохирургических операциях показала, что введение его в составе кардиopleгического раствора дает наилучшие результаты. Содержание диеновых конъюгатов, ТБК-реактивных субстанций и активность КФК-МВ в плазме крови пациентов при таком введении были ниже, чем при внутривенном введении. КПП позволяет доставить препарат непосредственно клеткам-мишеням и обеспечивает максимальную концентрацию препарата в миокарде, где гистохром и проявляет защитный эффект [23].

При лечении заболеваний глаз применяется 0,02 % раствор гистохрома в виде субконъюнктивальных или парабульбарных инъекций в объеме 0,3 – 0,5 мл. Инъекции проводят ежедневно или через день в зависимости от показаний и клинического течения заболеваний. Наиболее эффективные результаты в виде быстрого рассасывания кровоизлияний были выражены при применении гистохрома через ирригационную систему [32].

Побочные эффекты и переносимость гистохрома. Большинство больных при лечении гистохромом не имели серьезных осложнений, которые потребовали бы дополнительной коррекции. Из выявленных побочных эффектов лечения гистохромом следует отметить у больных болезненность по ходу вены без признаков флебита, кратковременное урежение частоты сердечных сокращений и повышение артериального давления, что не требовало дополнительной терапии. Интенсивное темно-красное окрашивание мочи не было проявлением гематурии. Гистохром не оказывал повреждающего действия на паренхиматозные органы: не изменялись показатели функции печени, почек, не было также изменений показателей формулы крови

(концентрации гемоглобина, гематокрита), не вызывал аллергических реакций [18, 20, 21]. Эти данные подтверждают безопасность применения гистохрома с целью защиты миокарда от реперфузионного повреждения перед проведением тромболизиса у больных ИМ и при аорто-коронарном шунтировании у больных ИБС.

Использование гистохрома позволяет более эффективно предупредить усиление процессов перекисидации и выход в кровь кардиоспецифического фермента МВ-КФК, присущие реперфузионному повреждению миокарда, что обусловлено более выраженным прямым антиоксидантным действием этого препарата по сравнению с другими антиоксидантами [22].

Но, как показывают результаты почти всех исследований, благоприятные клинические эффекты гистохрома у пациентов после достигнутой миокардиальной реперфузии сохраняются лишь в первые 2 суток острого ИМ. Следовательно, для полной реализации защитных эффектов гистохрома при ОИМ целесообразно более длительное курсовое введение препарата.

Гистохром, соединение хиноидной природы, имеет окислительно-восстановительный потенциал, близкий к физиологическому, и может брать на себя функцию переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий. Это предположение согласуется с данными работ [14, 23, 24], показавших, что гистохром положительно влияет на энергетику клеток миокарда, а именно поддерживает уровень АТФ в кардиомиоцитах в условиях острой ишемии. Таким образом, можно говорить не только об антиоксидантном эффекте гистохрома, но и о его кардиометаболическом действии [23].

Гистохром является достаточно эффективным препаратом при пролиферативных процессах, дегенерациях и гемофтальмах различного генеза. Препарат оказывает геморезорбционное, ретинопротекторное действие, обладает антиоксидантными свойствами и может быть широко использован в офтальмологической практике при заболеваниях, связанных с нарушением обменных процессов сетчатки, сосудистой оболочки и роговицы, для улучшения трофики, уменьшения отека и ускорения эпителизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. R. H. Thomson, *Naturally occurring quinones*, Academic Press, London (1971), pp. 257 – 276.
2. Л. В. Богуславская, *Автореф. дис. канд. хим. наук*, Москва (1990).
3. Л. В. Богуславская, Н. Г. Храпова, О. Б. Максимов, *Изв. АН СССР, Сер. хим.*, № 7, 1471 – 1476 (1985).
4. Л. В. Богуславская, Е. Б. Бурлакова, Е. А. Кольцова и др., *Биофизика*, **35**(6), 928 – 932 (1990).
5. Л. В. Богуславская, Н. П. Мищенко, *Изв. АН СССР, Сер. хим.*, 329 – 333 (1991).
6. А. В. Лебедев, Л. В. Богуславская, Д. О. Левицкий и др., *Биохимия*, **53**(4), 598 – 602 (1988).
7. А. В. Лебедев, М. В. Иванова, Н. И. Красновид, *Биохимия*, **64**(11), 1273 – 1278 (1999).
8. Д. О. Левицкий, А. В. Лебедев, С. М. Садретдинов и др., Патент СССР 1833544.

9. Ю. В. Лакеев, В. А. Косых, Е. И. Косенков и др., *Бюл. эксп. биол. мед.*, **114**(11), 477 – 479 (1992).
10. Г. Б. Еляков, С. А. Федореев, О. Б. Максимов и др., Патент РФ 2137472; *Бюл. изобрет.*, № 26 (1999).
11. Г. Б. Еляков, С. А. Федореев, О. Б. Максимов и др., Патент РФ 2134107; *Бюл. изобрет.*, № 22 (1999).
12. А. В. Швилкин, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (1990).
13. А. В. Швилкин, Л. И. Серебрякова, О. В. Цкитишвили и др., *Кардиология*, № 11, 79 – 81 (1991).
14. А. А. Винокуров, В. В. Алабовский, В. С. Шульженко и др., *Вопросы мед. химии*, **47**(5), 483 – 490 (2001).
15. Л. П. Догадова, Н. М. Тихомирова, О. Б. Максимов и др., Патент СССР 1826909; *Бюл. изобрет.*, № 25 (1993).
16. Н. А. Шульгина, Л. П. Догадова, Н. М. Тихомирова и др., Патент РФ 2038088; *Бюл. изобрет.*, № 18 (1995).
17. Н. А. Шульгина, *Автореф. дис. канд. мед. наук.*, Красноярск (1995).
18. А. Н. Закирова, М. В. Иванова, В. Б. Голубятников и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **60**(6), 21 – 24 (1997).
19. М. В. Иванова, А. В. Лебедев, Н. П. Мищенко и др., *Бюл. эксп. биол. мед.*, **122**(12), 662 – 664 (1996).
20. В. А. Марков, Г. А. Буймов, И. В. Максимов и др., *Кардиология*, № 12, 20 – 23 (1999).
21. А. И. Закирова, А. В. Лебедев, В. В. Кухарчук и др., *Терапевтический архив*, № 8, 12 – 14 (1996).
22. Т. В. Ласукова, Е. В. Ускина, С. А. Афанасьев и др., *Эксперим. клин. фармакол.*, **60**(5), 51 – 53 (1997).
23. И. В. Пономаренко, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Томск (2000).
24. С. А. Афанасьев, Ю. Ю. Вечерский, И. В. Понамаренко и др., *Кардиология*, № 8, 30 – 33 (2000).
25. С. А. Афанасьев, Т. В. Ласукова, А. М. Чернявский, *Бюл. эксп. биол. мед.*, **124**(12), 669 – 671 (1997).
26. Г. С. Полунин, И. А. Макаров, Ю. К. Ширшиков и др., *Вестник офтальмологии*, № 2, 19 – 20 (2000).
27. Г. С. Полунин, И. А. Макаров, Н. П. Мищенко, С. А. Федореев, *Рефракционная хирургия и офтальмология*, **2**(2), 53 – 56 (2002).
28. В. А. Алехина, *Дис. канд. мед. наук*, Москва (1999).
29. Е. А. Егоров, В. А. Алехина, Г. М. Волобуева и др., *Вестник офтальмологии*, **115**(2), 34 – 35 (1999).
30. В. Д. Антонюк, А. Н. Тур, С. Ю. Щукин и др., *Использование антиоксидантов в комплексном лечении отека роговицы после удаления катаракты*, Тезисы 3 Российского симпозиума по рефракционной хирургии, Москва (2001).
31. В. Я. Мельников, Л. П. Догадова, В. П. Скрипка и др., *Клиническая офтальмология*, **2**(3), 94 – 96 (2001).
32. М. Р. Гусева, С. А. Федореев, Н. П. Мищенко, *Гистохром в комплексном лечении внутриглазных кровоизлияний*, Тез. Докл. I Международной конф. “Пролиферативный синдром в офтальмологии”, Москва (2000), сс. 45 – 46.

Поступила 08.08.02.