

Видеохирургия в диагностике, лечении и оценке эффективности лечения пациенток с опухолями яичников

Т.М. Кочоян, Д.В. Комов, И.Г. Комаров, Р.А. Керимов, А.И. Беришвили, А.В. Логачев, И.В. Высоцкая
Отделение хирургической диагностики опухолей РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Игорь Геннадьевич Комаров komarovig@mail.ru

Проанализированы преимущества применения видеолaparоскопических операций при опухолях яичников, выполняемых как с целью осуществления дифференциальной диагностики первичных заболеваний опухолевой и неопухолевой природы, так и для оценки эффективности проведенного лечения и диагностики рецидива.

Ключевые слова: опухоли яичников, видеохирургия, диагностическая лапароскопия

Videosurgery in the diagnosis, treatment, and evaluation of its efficiency in patients with ovarian tumors

T.M. Kochoyan, D.V. Komov, I.G. Komarov, R.A. Kerimov, A.I. Berishvili, A.V. Logachev, I.V. Vysotskaya
Department for Surgical Diagnosis of Tumors, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center,
Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The paper analyzes the benefits of laparoscopic videosurgery for ovarian tumors, performed for both the differential diagnosis of primary tumor and non-tumor diseases and the evaluation of treatment efficiency and the diagnosis of a recurrence.

Key words: ovarian tumors, videosurgery, diagnostic laparoscopy

Введение

Проблема диагностики и лечения опухолей яичников до настоящего времени остается актуальной. Статистические данные высоких показателей заболеваемости и смертности (192,4 тыс. новых случаев злокачественных новообразований яичников в год и более 114,2 тыс. смертей) требуют внедрения новых подходов к диагностике и лечению данной категории онкологических больных. При этом I–II стадии заболевания диагностируют лишь у трети (31,9%) впервые выявленных больных, в то время как распространенные формы составляют 68,1% наблюдений [1].

Современные возможности использования разнообразных методов лечения (хирургический, химиотерапевтический, лучевой и иммунотерапевтический), относительно высокая чувствительность большинства эпителиальных опухолей к противоопухолевым препаратам при 1-й линии терапии создают предпосылки для длительного лечения больных раком яичников (РЯ) [2–5]. Необходимость замены одного вида терапии другим предполагает развитие оптимальных методов для осуществления точной диагностики первичной опухоли и ее реци-

дивов. Ведущими методами дооперационной диагностики опухолевых образований яичников являются гинекологический осмотр, ультразвуковая компьютерная томография (УЗКТ), определение уровня маркера СА-125 в сыворотке крови, рентгеновская и магнитно-резонансная томография (МРТ) [6–8]. Информативность данных методов высока, однако без выполнения диагностической лапароскопии, позволяющей получить морфологическую верификацию опухоли, определить местную распространенность и отдаленные метастазы в брюшной полости, выбор правильной тактики лечения невозможен. Так, К.В. Clough et al. [9] опубликовали данные об информативности применения при подозрении на РЯ диагностической лапароскопии. У 58 (70%) из 83 больных диагноз подтвердился, при этом в 24 (41,4%) случаях процесс был признан нерезектабельным, лечение начинали с проведения неoadъювантной химиотерапии (ХТ). У 30% пациенток РЯ обнаружен не был, несмотря на наличие у них высокого уровня маркера СА-125 и ультразвуковых признаков РЯ. Большинство больных РЯ на I этапе получают комбинированное лечение. Обычно ХТ больным РЯ проводят

до достижения у них клинической ремиссии, т. е. до нормализации уровня СА-125 и подтверждения отсутствия опухоли при УЗКТ. Эффективность такой оценки довольно высока, однако выполнение диагностической лапароскопии с забором смывов с брюшины и множественной биопсии для морфологического исследования позволяет либо подтвердить ремиссию, либо обнаружить остаточную опухоль, что в свою очередь предполагает продолжение лечения [10]. При проведении сравнительного анализа продолжительности клинической ремиссии и ремиссии, подтвержденной при лапароскопии, выявлена достоверная разница. Безрецидивный период при клинической ремиссии составил 12,2 мес, а при ремиссии, подтвержденной с помощью данных лапароскопии, — 19,6 мес [9]. Таким образом, неинвазивные методы диагностики не всегда позволяют точно оценить результаты лечения, что приводит к выбору ошибочной тактики ведения и к сокращению тем самым безрецидивного периода в связи с неполноценным лечением. Подобные диагностические ошибки обуславливают рост числа химиорезистентных опухолей, плохо реагирующих впоследствии на проведение очередных линий терапии.

Таким образом, применение видеохирургии при опухолях и опухолевидных образованиях яичников позволяет провести первичную диагностику некоторых новообразований яичников и матки, дифференциальную диагностику патологических процессов в маточных трубах, яичниках, матке и смежных органах, а также уточняющую диагностику, дающую возможность более четко определить локализацию, размеры, анатомическую форму опухоли, а при выполнении биопсии из опухоли и различных участков брюшины — ее гистологическое строение и степень распространения. При доброкачественных опухолях лапароскопический доступ обеспечивает возможность проведения оперативного вмешательства в любом объеме. Кроме того, видеолапароскопию выполняют в целях осуществления контроля над полнотой клинической ремиссии, достигнутой после ХТ.

Материалы и методы

Нами выполнено 287 видеолапароскопических операций у больных с опухолями яичников. Возраст пациенток варьировал от 19 до 72 лет (в среднем 43,6 года). Всем больным до операции, помимо стандартного обследования, проводили определение уровня опухолевого маркера СА-125. Лапароскопические операции являлись заключительным этапом диагностического алгоритма. Основные цели выполнения данного вида операций включали подтверждение или опровержение клиническо-

го диагноза, проведение дифференциальной диагностики между первичным, метастатическим и доброкачественным поражением яичников, оценку распространенности опухолевого процесса, получение материала для цитологического гистологического исследования, определение возможности осуществления радикальной операции.

Результаты

Первичное эндоскопическое исследование было выполнено у 197 (68,6%) пациенток с клиническим диагнозом РЯ. В 63 (21,9%) случаях больным проводили комбинированное лечение по поводу РЯ, для оценки эффективности лечения и подтверждения морфологической ремиссии осуществляли лапароскопическое вмешательство. Поводом для проведения лапароскопического вмешательства у 27 (9,5%) пациенток, ранее получивших комбинированное и/или комплексное лечение, явилось подозрение на рецидив заболевания, обусловленное данными гинекологического осмотра, исследования уровня маркера СА-125 и УЗКТ.

Среди оперированных больных 2 лапаротомии ранее перенесли 23 (8%) пациентки, 1 — 61 (21,2%), лапароскопию — 42 (14,6%).

Объем оперативного вмешательства зависел от возраста больной, размера опухоли, желая пациентки сохранить детородную функцию и, безусловно, от результатов срочного гистологического исследования.

У 114 (57,9%) из 197 пациенток, подвергшихся первичной диагностической лапароскопии, при выполнении срочного гистологического исследования данных, подтверждающих наличие злокачественной опухолевой патологии, получено не было, в связи с чем объем операции из диагностической лапароскопии перешел в лечебную. В 56 (49,1%) случаях выполнена овариэктомия, из них у 33 (28,9%) пациенток — в сочетании с биопсией другого яичника.

Результаты планового гистологического исследования опухолей показали следующее: зрелые тератомы выявлены у 4 (42,1%), цистаденомы — у 29 (25,4%), эндометриоидные кисты — у 23 (20,2%), кисты желтого тела — у 17 больных. Ни в одном случае не потребовалось осуществления конверсии. В послеоперационном периоде у 2 (1,75%) пациенток наблюдалось осложнение в виде инфильтрации, возникшего в области послеоперационной раны при удалении дермоидных кист больших размеров, разрешившееся консервативно. У остальных больных послеоперационный период протекал без осложнений. Прием наркотических анальгетиков в первые сутки после операции потребовался 23 (24%) пациенткам, 83 (72,8%) женщины были от-

пущены из клиники на вторые сутки после операции.

Видеолапароскопия в первичной диагностике РЯ

Первичное лапароскопическое исследование было проведено у 197 пациенток с клиническим диагнозом РЯ. Критериями отбора больных служили повышение уровня маркера СА-125 выше дискретного в 2 раза и более, выявление в яичниках при гинекологическом осмотре, а также по данным УЗКТ и/или КТ образований солидного или кистозно-солидного строения, а также обнаружение новообразований в яичниках по данным комплексного обследования при наличии в анамнезе других онкологических заболеваний.

У 114 (57,9%) больных выявлены доброкачественные опухоли яичников. У 74 (38,1%) пациенток диагностирован РЯ, из них у 13 (17,6%) опухолевый процесс локализовался в пределах яичников и у 61 (82,4%) отмечена диссеминация процесса. В 9 (4,6%) случаях имело место метастатическое поражение яичников: метастазы рака желудка (РЖ) обнаружены у 4, рака молочной железы (РМЖ) — у 5 больных.

В нашем исследовании при первичной диагностике метастазы РЯ выявлены у 61 (73,5%) из 83 пациенток. Локализация метастазов представлена в табл. 1.

Морфологическое исследование материала, взятого во время осуществления лапароскопии у больных со злокачественными опухолями яичников, является одним из важных моментов, направленных как на уточнение структуры опухоли, так и на оценку возможности выполнить после срочного гистологического исследования радикальную или циторедуктивную операцию. У всех 83 пациенток диагноз РЯ подтвержден морфологически после проведения эндоскопической операции, при этом первичное поражение яичников выявлено у 74 (89%), метастатическое их поражение — у 9 (11%) больных. Результаты морфологического исследования биоптата, выполненного лапароскопическим методом, представлены в табл. 2.

У пациенток с пограничными опухолями осуществление операции продолжено в лапароскопическом варианте, во всех случаях выполнены тубоовариэктомия с пораженной стороны, резекция контралатерального яичника, удаление большого сальника.

Распределение больных РЯ по стадиям на основании данных, полученных при лапароскопии, представлено на рисунке.

Двенадцати пациенткам с I и II стадиями выполнена конверсия, объем операции расширен до надвлагалищной ампутации матки с придатками, оментэктомии. У 16 (21,6%) больных с нали-

Таблица 1. Локализация метастазов при первичной диагностике

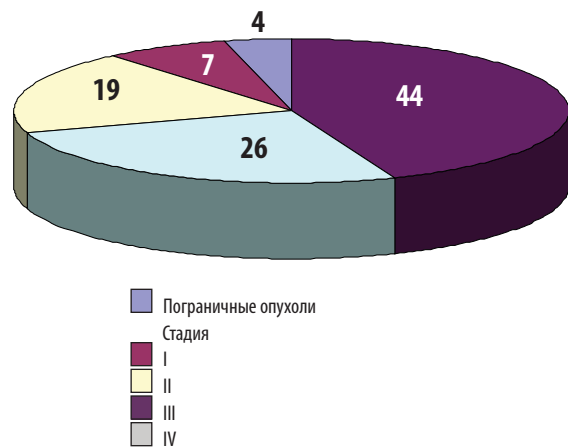
Локализация метастазов	Число больных	
	абс.	%
Висцеральная и париетальная брюшина	24	39,4
Большой сальник	6	9,8
Тазовые и парааортальные лимфатические узлы	5	8,2
Печень	8	13,1
Сочетание ≥ 2 локализаций	18	29,5
Всего...	61	100

Таблица 2. Результаты морфологического исследования опухоли яичников

Гистологическая форма опухоли	Число больных	
	абс.	%
Серозный рак	53	71,6
Муцинозный рак	11	14,9
Эндомиоидный рак	6	8,1
Светлоклеточный рак	1	1,4
Пограничные опухоли	3	4,0
Всего...	74	100

чием диссеминированного опухолевого процесса в брюшной полости и малом тазу осуществление конверсии потребовалось для выполнения циторедуктивной операции в объеме надвлагалищной ампутации матки с придатками и резекции большого сальника.

В 43 (58,1%) случаях лечение начинали с проведения неоадьювантной ХТ для достижения частичной регрессии опухоли, так как по данным лапароскопии выполнение циторедуктивной операции на I этапе комбинированного лечения было признано нецелесообразным. Благодаря минимальной травматичности лапароскопических операций и быстрой нормализации состояния больных лечение большинства пациенток было начато на 3–4-е сутки после операции.



Распределение больных по стадиям (%)

В нашей работе у 9 (4,6%) пациенток диагностировано метастатическое поражение яичников: в 5 (2,53%) наблюдениях выявлены метастазы РМЖ, в 4 (2%) — метастазы РЖ. В группе больных с метастазами РЖ при ультразвуковом исследовании (УЗИ) обнаружено двустороннее поражение яичников и наличие незначительного (в среднем около 200 мл) количества выпота в брюшной полости. Уровень опухолевого маркера СА-125 при этом был повышен в 3–4 раза (максимальное значение — 142,8 Ед/мл).

У 4 (2%) пациенток с клиническим диагнозом РЯ после выполнения лапароскопической операции первичный диагноз был опровергнут. При морфологическом исследовании обнаружены метастазы РМЖ. Выпота в брюшной полости и диссеминации ни в одном случае не наблюдалось. При дальнейшем обследовании, включавшем проведение маммографии, диагноз РМЖ был подтвержден. Следует отметить, что во всех наблюдениях также установлено повышение уровня опухолевого маркера СА-125 (максимальное значение — 1655,4 Ед/мл). В большинстве случаев операция была завершена эндоскопическим доступом. Исключение составила только 1 больная, которой потребовалось выполнение минилапаротомии (разрез 10 см) в связи с удалением опухоли больших размеров.

Средняя продолжительность операции с учетом времени проведения срочного гистологического исследования составила $46,8 \pm 11,6$ мин. Во всех наблюдениях отмечена незначительная (≥ 50 мл) кровопотеря. В послеоперационном периоде прием наркотических анальгетиков потребовался больным лишь в первые сутки. Послеоперационный койко-день у пациенток составил $3,7 \pm 0,5$.

Таким образом, выполнение оперативной лапароскопии у больных с первичным клиническим диагнозом РЯ позволило в 114 (57,9%) наблюдениях

опровергнуть злокачественность процесса и провести операцию в необходимом объеме без осуществления конверсии. В 9 (4,6%) случаях удалось подтвердить метастатическое поражение яичников с указанием на первичную локализацию первичного очага. У 74 (38%) пациенток диагноз РЯ подтвердился, при этом были определены его морфологическая характеристика и распространенность опухолевого процесса, что позволило в 28 (14,2%) случаях оценить резектабельность опухоли уже на I этапе.

Видеолапароскопия в оценке эффективности проведенного лечения больных РЯ

Большинство больных РЯ на I этапе получают комбинированное лечение: циторедуктивную операцию в различном объеме и поли-ХТ — до достижения клинической ремиссии, т. е. до нормализации уровня маркера СА-125 и до подтверждения информации об отсутствии опухоли при гинекологическом осмотре и по данным УЗИ. При наличии остаточных опухолевых образований в брюшной полости необходимо решить вопрос о целесообразности продолжения ХТ или проведении динамического наблюдения. Осуществление видеохирургических вмешательств с выполнением смывов из брюшной полости, взятием множественной биопсии из остаточной опухоли и/или брюшины позволяет либо подтвердить ремиссию, либо опровергнуть ее.

Критериями отбора были нормализация уровня маркера СА-125 после проведенного лечения, отсутствие признаков заболевания при гинекологическом осмотре, отсутствие или уменьшение видимых проявлений заболевания по данным УЗИ. При осуществлении всех видеолапароскопических операций обязательным было выполнение биопсии брюшины вне зависимости от визуального ее изменения, забор смывов из брюшной полости, биопсия/удаление остаточных опухолевых узлов.

Четырнадцать (22,2%) пациенток подвергались выполнению лапароскопии неоднократно. Время от наступления клинической ремиссии до осуществления диагностической видеолапароскопии в среднем составило 32,8 дня. Выполнение видеолапароскопии у 43 (68,2%) больных, ранее получивших лечение, позволило морфологически подтвердить ремиссию заболевания, а у 20 (31,8%) пациенток при морфологическом исследовании биоптатов с брюшины и смывов из брюшной полости были обнаружены клетки рака.

В 35 (55,5%) случаях лечение начинали с проведения различных видов циторедуктивных операций (надвлагалищная ампутация/экстирпация матки с придатками, резекция/удаление большого сальника) с последующим назначением ХТ.

У 23 (36,5%) пациенток хирургический этап лечения осуществляли между проведением нео- и адьювантных курсов ХТ. В 5 (8%) случаях лечение было начато с применения неoadьювантной ХТ (до 9 курсов). После лечения зарегистрировано снижение уровня маркера СА-125 до нормальных значений, уменьшение размеров опухоли яичников по данным УЗИ. Лапароскопически решали вопрос о возможности проведения циторедуктивной операции, при этом в 3 случаях в связи с отсутствием диссеминации были выполнены экстирпация матки с придатками и оментэктомия, а 2 больным — предложено продолжение лекарственного лечения.

Только у 2 (8,7%) из 23 пациенток в группе с проведением операции между курсами ХТ не было получено морфологического подтверждения ремиссии, тогда как у больных, лечение которых начинали с выполнения циторедуктивной операции с последующим использованием ХТ, наличие активной опухолевой ткани было выявлено в 13 (37%) из 35 случаев.

Таким образом, использование методов эндоскопической хирургии позволило 31,8% пациенток с наличием активных метастазов брюшной полости избежать динамического наблюдения, а 22 (62,9%) из 35 больных — выполнить циторедуктивную операцию.

Видеолапароскопия в диагностике рецидива РЯ

Для большинства клиницистов бесспорным является тот факт, что после окончания первичного лечения и достижения ремиссии у больных РЯ высока вероятность развития рецидива заболевания. У подавляющего большинства пациенток с III–IV стадиями заболевания после достижения клинической ремиссии возникновение рецидива опухоли наблюдалось в сроки от 10 до 14 мес. По временному параметру различают ранние рецидивы, или продолженный рост опухоли (ремиссия < 6 мес), и поздние рецидивы (ремиссия > 6 мес). Больные, находящиеся в клинической ремиссии, нуждаются в длительном мониторинге, включающем проведение гинекологического осмотра, выполнение УЗИ органов брюшной полости, забрюшинного пространства и малого таза и осуществление динамического контроля за уровнем опухолевого маркера СА-125. В результате проведенного клинического исследования выявлено, что, несмотря на отсутствие клинических симптомов, у большинства пациенток в сроки 10–18 мес после первичной комбинированной терапии отмечено повышение уровня СА-125 и/или подозрение на рецидив заболевания, обусловленное данными УЗИ (табл. 3).

Повышение уровня опухолевого маркера СА-125 в сыворотке больных стало причиной появления подозрений на наличие рецидива заболева-

Таблица 3. Результаты неинвазивных (УЗКТ) методов диагностики рецидива

Локализация рецидива	Число больных	
	абс.	%
Отсутствие рецидива	5	18,5
Малый таз	12	44,4
Забрюшинные лимфатические узлы	2	7,4
Паренхима печени	1	3,7
Сочетание > 2 локализаций	7	26
Всего...	27	100

ния. Только у 5 (18,5%) из 27 пациенток содержание маркера оставалось в пределах нормы. У 7 (26%) больных уровень СА-125 не превышал 100 Ед/мл, а у 15 — варьировал от 100 до 1000 Ед/мл.

В связи с отсутствием объективных данных о рецидиве заболевания лапароскопические операции выполняли с целью подтверждения диагноза и оценки распространенности опухолевого процесса. Критериями отбора служили повышение уровня маркера СА-125 выше дискретного в ≥ 2 раза при отсутствии проявлений заболевания по данным УЗКТ, нормальный уровень СА-125 при наличии очаговых образований в брюшной полости, полости малого таза и забрюшинном пространстве, а также возможное сочетание указанных признаков.

Использование лапароскопических операций у больных с подозрением на рецидив РЯ в 21 (77,7%) случае способствовало выявлению морфологически подтвержденного рецидива. У 6 (22,3%) пациенток наличие рецидива не удалось подтвердить ни лапароскопически, ни с помощью данных морфо-

Таблица 4. Результаты лапароскопии

Характеристика уровня СА-125 и данных УЗКТ	Число больных	Результаты лапароскопии		Группа
		рецидив	без рецидива	
СА-125 > N УЗИ негативное	6 (22,2)	2 (33,3)	4 (66,7)	1-я
СА-125 = N УЗИ позитивное	5 (18,5)	3 (60)	2 (40)	2-я
СА-125 > N УЗИ позитивное	16 (59,3)	16 (100)	—	3-я
Всего...	27 (100)	21 (77,8)	6 (22,2)	

Примечание. Представлено число больных (в скобках — процент). N — норма.

логического исследования биоптата брюшины и смывов брюшной полости (табл. 4).

В 1-й группе у 2 (33,3%) больных при выполнении лапароскопии выявлены множественные метастазы по париетальной и висцеральной брюшине белесоватого цвета, размерами от 0,2 до 0,5 см в диаметре, наблюдалось незначительное количество асцитической жидкости в брюшной полости (до 300 мл). У обеих пациенток рецидив заболевания подтвержден морфологически, рекомендовано ХТ-лечение. В 4 (66,7%) случаях признаков заболевания обнаружено не было — как по визуальным данным, так и по результатам морфологического исследования (забор смыва из полости малого таза, множественная биопсия из различных участков париетальной брюшины). Этим пациенткам рекомендовано динамическое наблюдение.

Во 2-й группе у 3 (60%) женщин обнаружен рецидив заболевания, у 2 из них выявлено наличие свободной жидкости в брюшной полости. Во всех случаях отмечена диссеминация по париетальной и висцеральной брюшине. Размеры диссеминатов варьировали от 0,5 до 2 см, они имели белесоватый цвет и плотную консистенцию. Пациенткам выполнена множественная биопсия узловых образований, проведено цитологическое исследование выпота в брюшной полости. Рецидив был морфологически верифицирован, больным рекомендовано проведение ХТ. У 2 пациенток наличие рецидива не подтвердилось. Больные оставлены под динамическим наблюдением.

В 3-ю группу входили 16 (59,3%) пациенток, наличие рецидива у них было подтверждено мор-

фологически. Больным рекомендовали проведение лекарственного лечения с последующим удалением рецидивной опухоли.

Таким образом, применение видеохирургического метода в 21 (77,8%) случае позволило установить рецидив заболевания и незамедлительно начать специальное лечение, а в 6 (22,2%) — опровергнуть наличие рецидива, благодаря чему больные избежали проведения необоснованного лечения.

Заключение

Использование методов оперативной лапароскопии у больных с первичным клиническим диагнозом РЯ позволило более чем в половине случаев опровергнуть злокачественность процесса и выполнить операцию в необходимом объеме без осуществления конверсии, у 4,6% пациенток — подтвердить метастатическое поражение яичников с указанием на первичную локализацию опухоли, у 38% — установить диагноз РЯ, а у 14,2% — оценить резектабельность опухоли на I этапе. У трети (31,8%) больных, находящихся под динамическим наблюдением, применение данного метода способствовало выявлению метастатического поражения брюшной полости и своевременному проведению лекарственной терапии. Видеохирургические операции имели высокую диагностическую ценность, благодаря их выполнению у 21 (77,8%) больной удалось установить наличие рецидива заболевания и в кратчайшие сроки начать специальное лечение, а у 6 (22,2%) — избежать проведения необоснованного лечения при неподтвержденном рецидиве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2002 году. М., 2004; с. 107–8.
2. Горбунова В.А. Современные возможности лекарственной терапии рака яичников. В кн.: Современные экспериментальные и клинические подходы к диагностике и рациональному лечению рака яичников. М., 2001; с. 92–115.
3. Жордания К.И. Роль опухолеассоциированных маркеров в диагностике и лечении рака яичников. В кн.: Современные экспериментальные и клинические подходы к диагностике и рациональному лечению рака яичников. М., 2001; с. 58–65.
4. Кузнецов В.В., Блюменберг А.Г. Возможности хирургического метода в комбинированном лечении рака яичников. В кн.: Современные экспериментальные и клинические подходы к диагностике и рациональному лечению рака яичников. М., 2001; с. 66–76.
5. Mcknight E., Look K.Y. The surveillance of the patient with epithelial ovarian cancer following primary chemotherapy. J Gynecol Oncol 2001;6:1571–84.
6. Адамян Л.В., Фанченко Н.Д., Алексеева М.Л. Диагностическая значимость определения онкомаркеров СА-125, СА-19-9 и РСА в гинекологии. Методологические рекомендации. М., 1994; с. 56–8.
7. Антошечкина Е.Т. Особенности клиники и факторы прогноза при злокачественных опухолях яичников у женщин молодого возраста. В кн.: Диагностика и лечебная тактика при ранних формах злокачественных опухолей яичников. М., 1984; с. 121–4.
8. Блюменберг А.Г., Чекалова М.А., Коробейников А.П., Кузнецов В.В. Клиническое значение ультразвуковой диагностики и опухолеассоциированного маркера СА-125 при рецидивах рака яичников. Ультразвук диагност акуш, гинекол педиатр 1999 (2):135–7.
9. Clough K.B., Ladonne I.M., Nos C. et al. I/Second-look for ovarian cancer laparoscopy or laparotomy? Prospective comparative study. J Gynecol Oncol 1999;72:411–7.
10. Gadducci A., Lalconi P., Fanucchi A. Surgical cytoreduction during second-look laparotomy in patients with advanced ovarian cancer. Anticancer Res 2000;19:59–64.