

doi: 10.17116/jnevro201611651?-

Эффективность комбинированной терапии мексидолом и церебролизином хронической ишемии головного мозга

С.В. БЕРЕЖНАЯ^{1*}, Э.З. ЯКУПОВ², Ю.А. ЗАХАРОВ³

¹ГАУЗ «Городская поликлиника №6» Казань; ²ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Казань; ³ГБОУ ВПО «Институт физики Казанского (Приволжского) федерального университета», Казань, Россия

Цель исследования. Изучение влияния комбинации мексидола и церебролизина в составе комплексной терапии на состояние клинического статуса пациентов с хронической ишемией головного мозга (ХИМ) II стадии в амбулаторных условиях. **Материал и методы.** В исследование включены 36 пациентов с диагнозом ХИМ II стадии. На фоне базисной терапии пациенты получали 2 курса комбинированной терапии препаратами мексидол и церебролизин в течение 6 нед с интервалом между курсами 3 мес. После каждого курса оценивалась динамика жалоб пациентов и объективных клинических проявлений. После окончания лечения определено содержание 13 химических элементов в волосах атомно-эмиссионным методом. **Результаты и заключение.** На основании данных клинико-неврологического обследования показана терапевтическая эффективность назначения мексидола и церебролизина в качестве длительной нейропротекции у больных с ХИМ II стадии, которая проявлялась достоверным снижением выраженности всех основных симптомов под влиянием проводимой терапии.

Ключевые слова: хроническая ишемия головного мозга, мексидол, церебролизин, микроэлементный баланс.

The efficacy of combination therapy with mexidol and cerebrolysin in chronic cerebral ischemia

S.V. BEREZHNYAYA, E.Z. YAKUPOV, YU.A. ZAHAROV

City Hospital №6, Kazan; Kazan State Medical University, Kazan; Institut of Physics of Kazan Volga Region Federal University, Kazan, Russia

Objective. To study the impact of combination therapy with mexidol and cerebrolysin on the clinical status of patients with chronic cerebral ischemia (CCI), II stage, in ambulatory conditions. **Material and methods.** The study included 36 patients with CCI, II stage. In addition to basic therapy, patients received two courses of the mexidol/cerebrolysin combination during 6 weeks with 3 month-interval between the courses. The dynamics of subjective complaints of the patients and objective clinical signs was assessed after each course. The content of 13 chemical elements in the hair was determined by atomic-emission method after the treatment. **Results and conclusion/** Based on the results of clinical and neurological study, the efficacy of combination therapy with mexidol and cerebrolysin as long-term neuroprotection drugs was shown which manifested a significant reduction in the severity of all major symptoms under the influence of the therapy.

Keywords: chronic cerebral ischemia, mexidol, cerebrolysin, microelement balance.

Поскольку цереброваскулярные заболевания являются одной из основных причин летальности и стойкой утраты трудоспособности больных, понятен постоянный интерес к возможностям лечения пациентов с данной патологией. Хроническая ишемия мозга (ХИМ) — особая разновидность сосудистой церебральной патологии, обусловленная медленно прогрессирующим диффузным нарушением кровоснабжения головного мозга с постепенно нарастающими разнообразными дефектами его функционирования [1]. Основным в лечении пациентов с ХИМ в амбулаторно-поликлинических условиях являются купирование развившейся декомпенсации патологического процесса, замедление прогрессирования заболевания, снижение выраженности когнитивных расстройств и неврологического дефицита.

Наиболее эффективными мерами по предупреждению дальнейшего прогрессирования заболевания является воздействие на сосудистые факторы риска: прежде всего адекватная антигипертензивная терапия, коррекция углеводного и липидного обменов, улучшение метаболизма мозговой ткани [2]. Сложность патогенетической структуры ишемии головного мозга включает в себя деэнергизацию клеток мозга (снижение дыхательной мощности митохондрий) в результате гипоксии и ацидоза, нарушения процессов свободнорадикального окисления, микрогемодиализации, развития дисфункции эндотелия. В последние годы все большее внимание уделяется изучению связи рассмотренных выше патологических процессов и нарушения гомеостаза ряда микро- и макроэлементов [3, 4]. Все это предполагает включение в фармаколо-

гическую терапию ХИМ препаратов, корригирующих эти изменения. Доказано, что раннее применение энергостимуляторов — реальный путь сохранения жизнеспособности нервной ткани при острой и ХИМ [5]. Важным фактором при выборе препарата является сочетание нескольких свойств в одном лекарственном средстве [6].

Одним из таких средств является мексидол — синтетический препарат, который представляет собой соль янтарной кислоты (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат). Препарат обладает антигипоксическим и антиоксидантным действиями. Он тормозит процессы перекисного окисления липидов, активирует супероксиддисмутазу, оказывает влияние на физико-химические свойства мембрана и улучшает энергетический обмен в клетке [7]. Отмечается также позитивное влияние мексидола на макро- и микроэлементный гомеостаз в организме при ХИМ [8].

К препаратам с эффективным полимодальным действием на метаболизм нервной ткани относится церебролизин — гидролизат вещества головного мозга свиньи. В многочисленных исследованиях установлены нейропротективная эффективность церебролизина и его нейротрофическая активность, модуляция активных эндогенных факторов роста, взаимодействие с системами нейропептидов и нейромедиаторов [9, 10]. Церебролизин содержит широкий спектр макро- и микроэлементов (Na, K, Ca, Mg) и эссенциальных микроэлементов (Se, Zn, Sn, Co, Si, Fe, Cu, Mn, Cr, Li, V), которые являются функциональными компонентами и стабилизаторами металлоэнзимов, нуклеиновых кислот, витаминов. Оптимизация микроэлементного гомеостаза может выступать одним из существенных компонентов нейропротективного эффекта церебролизина [12]. Витамины природного происхождения, входящие в его состав, также определяют часть его фармакологической активности.

Цель настоящей работы — оценка нейропротективной эффективности комплексного лечения мексидолом и церебролизинем у пациентов с ХИМ II стадии и изменение микроэлементного баланса.

Материал и методы

В исследование были включены 36 пациентов с ХИМ II стадии. Наличие данной патологии было подтверждено нейровизуализационными и нейрофизиологическими исследованиями (магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга, транскраниальная доплерография (ТКДГ), экстракраниальное дуплексное сканирование (ЭКДС)) и соответствовало клиническим проявлениям ХИМ II стадии [5]. Всем больным были проведены биохимические исследования крови, больные были проконсультированы офтальмологом. По данным МРТ головного мозга начальные проявления атрофии в зонах смежного кровообращения с единичными мелкими очагами измененной плотности выявлены у 38,5% больных с ХИМ II стадии. Сочетание признаков атрофии с единичными очаговыми изменениями сосудистого генеза обнаружены у 61,5% пациентов с ХИМ II стадии.

Критериями исключения служили наличие декомпенсированных заболеваний сердца, легких и других внутренних органов, новообразований, психических нарушений, интоксикаций различного генеза, гиперчувствительности к исследуемым препаратам, гемодинамически значимого декомпенсированного стеноза маги-

стральных артерий головы (по результатам ТКДГ, ЭКДС), требующего проведения ангиохирургических пособий.

Средний возраст пациентов составил $64,5 \pm 8,3$ года. Этиологическими факторами у больных с ХИМ были артериальная гипертензия у 15,4% пациентов, атеросклероз у 23,1%, у остальных обследуемых отмечалось сочетание этих факторов. Пациентам проводилась базовая терапия антиагрегантами, больным с артериальной гипертензией назначалась адекватная антигипертензивная терапия. С целью коррекции гипоксии и энергодефицита клетки, уменьшения выраженности церебральных расстройств, обусловленных окислительным стрессом, назначался мексидол. С целью нейротрофического влияния на ткань мозга и модуляции активности эндогенных факторов роста нервов назначался церебролизин. Пациенты получили комбинированную терапию мексидолом (125 мг 3 раза в день внутрь в течение 6 нед) и церебролизинем (5,0 мл 1 раз в день внутримышечно 20 дней) 2-кратными курсами с интервалом между курсами 3 мес после окончания приема мексидола.

Для оценки эффективности лечения оценивали жалобы после каждого курса у пациентов с ХИМ II стадии, а также когнитивные, двигательные возможности при помощи модифицированного опросника Когана, краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE) [13, 14]. Адаптационный профиль больных с ХИМ определяли по психоэмоциональному состоянию (госпитальная шкала тревоги и депрессии — HADS) [13, 15]. При рассмотрении динамики жалоб выраженность клинических симптомов оценивалась по 4-балльной шкале (1 — отсутствие жалоб, 2 — легкая, 3 — средняя, 4 — значительная степень выраженности) и характеризовалась величиной среднего балла по группе. Выраженность объективных клинических симптомов определялась с помощью 5-балльной рейтинговой шкалы (0 — симптом отсутствует, 1 — легкие, 2 — умеренные, 3 — значительные, 4 — грубые проявления).

Для суждения о микроэлементном статусе обследуемых применяли атомно-эмиссионный метод. Анализ исследуемых образцов волос осуществлялся в Институте физики Приволжского (Казанского) федерального университета на масс-спектрометре ELAN — DRS II («Perkin Elmer», США) с индуктивно-связанной плазмой. Определено содержание 13 химических элементов (Zn, V, Mn, Mg, Fe, Cu, Al, K, Na, Ca, Li, Cr, Se) по методике, описанной нами ранее [16]. Основная группа составляла 15 человек с диагнозом ХИМ II стадии, получавших комбинированную терапию с применением мексидола и церебролизина по описанной выше схеме. Группа сравнения состояла из 21 пациента с ХИМ II стадии, которым на фоне базовой терапии антиагрегантами проводилась коррекция артериального давления. Данные о содержании микроэлементов в волосах пациентов сравнивали с референтными показателями для здоровых. В качестве референтных значений были использованы физиологические нормативы для жителей средней полосы России, приведенные в работах А.В. Скального [17, 18].

Статистическую обработку осуществляли при помощи программных пакетов Microsoft Excel XP. Вычисляли среднее арифметическое значение, среднеквадратичное отклонение от среднего арифметического значения для данной выборки; достоверность различий между средними значениями выборки до и после 2-го курса лечения в табл. 1—3 определяли по непараметрическому критерию

Вилкоксона; достоверность изменений содержания химических элементов в основной группе обследуемых пациентов по сравнению с контрольной — по непараметрическому критерию Манна—Уитни [19].

Результаты и обсуждение

На фоне проводимого комплексного лечения мексидолом и церебролизином отмечалась положительная динамика всех жалоб пациентов. В табл. 1 приведено изменение среднего балла после каждого из 2 курсов лечения. У больных с II стадией ХИМ имело место достоверное снижение выраженности всех основных клинических симптомов под влиянием проводимой терапии. Основное снижение интенсивности жалоб наблюдалось после 1-го курса лечения. Регресс ряда субъективных признаков после повторного курса лечения имел меньшую интенсивность.

Положительные изменения подтверждались результатами оценки объективного неврологического статуса пациентов. При объективном неврологическом исследовании у пациентов с ХИМ II стадии выявлены понижение уровня тревоги и депрессии, улучшение когнитивных функций (табл. 2). Было установлено достоверное уменьшение расстройств динамической и статической координации, уменьшение мышечного тонуса по пирамидному типу (табл. 3). Значимых побочных эффектов препаратов или ухудшения соматического и психического состояния на фоне лечения зарегистрировано не было.

Таким образом, комплексное применение мексидола и церебролизина оказало достоверное положительное

влияние на редукцию всех жалоб пациентов с ХИМ II стадии, что подтверждается объективными клиническими проявлениями.

Изменения микроэлементного статуса пациентов после комплексного лечения, включающего мексидол и церебролизин, представлены в табл. 4. Для группы сравнения были характерны нарушения микроэлементного баланса: пониженное содержание Zn (на 20%); Se (на 26%); повышенное содержание Mn (на 98%); Mg (на 32%); Na (на 167%); Li (на 50%); Cr (на 153%).

Эти данные в целом совпадают с данными, приведенными в нашей работе ранее, и, по-видимому, достаточно объективно отражают особенности микроэлементного дисбаланса при данной патологии [16]. Использование препаратов, потенциально способных влиять на микроэлементный статус пациента, позволило существенно понизить отклонения от граничных референтных значений для ряда элементов.

Дефицит Zn в волосах пациентов группы сравнения составлял 20%. Дефицит Zn у больных с ХИМ был обнаружен также при исследовании микроэлементного состава крови [8]. Между содержанием Zn в крови и волосах человека имеют место положительные корреляции [20]. Можно утверждать, что наши данные согласуются с данными литературы, и дефицит Zn с большой вероятностью является характерным признаком данной патологии. В литературе высказывается мнение, что влияние Zn на нейрохимические процессы неоднозначно и данный вопрос требует дополнительного изучения [3]. Вместе с тем по данным проведенного клинического обследования, для больных с пониженным содержанием Zn, как прави-

Таблица 1. Динамика субъективных жалоб на фоне терапии (баллы)

Жалоба	До лечения	После 1-го курса терапии	После 2-го курса терапии
Головная боль	2,846	2,231	2,077*
Метеочувствительность	2,923	2,384	2,346*
Шум, звон в голове	2,615	2,269	2,115*
Повышенная утомляемость	2,923	2,308	2,192*
Эмоциональная лабильность	2,846	2,423	2,269*
Снижение памяти	2,846	2,346	2,154*
Головокружение	2,692	2,231	2,115*
Неустойчивость при ходьбе	2,692	2,308	2,077*
Нарушение сна	2,808	2,692	2,654

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * — достоверность различий между показателями до лечения и после второго курса терапии $p < 0,05$.

Таблица 2. Динамика нейропсихологических характеристик на фоне терапии (баллы)

Шкала	До лечения	После 1-го курса терапии	После 2-го курса терапии
HADS	10,5	8,5	8*
MMSE	26,7	27,6	28,2*

Таблица 3. Динамика клинических проявлений у больных с ХИМ II стадии на фоне терапии (баллы)

Признак	До лечения	После 1-го курса терапии	После 2-го курса терапии
Повышение мышечного тонуса по пирамидному типу	0,654	0,461	0,461*
Расстройство динамической координации	2,00	1,692	1,615*
Расстройства статической координации	2,769	2,538	2,461*
Экстрапирамидный синдром	0,154	0,115	0,115
Глазодвигательные расстройства	0,192	0,154	0,154
Расстройства глотания и жевания	0,000	0,000	0,000
Расстройство речи	0,462	0,308	0,308

Таблица 4. Концентрация макро- и микроэлементов в волосах пациентов с ХИМ II стадии после комплексного лечения мексидолом и церебролизином в сравнении с референтными показателями

Элементы, мкг/г	Средние значения		Среднеквадратичное отклонение		Референтные показатели [14, 15]
	после лечения (n=15)	группа сравнения (n=21)	после лечения	группа сравнения	
Zn	165,33*	124,27	39,87	49,81	155—206
V	0,07	0,09	0,02	0,06	0,005—0,5
Mn	1,80	2,24	1,73	1,86	0,32—1,13
Mg	102,54*	180,92	86,21	106,70	39—137
Fe	16,69	21,51	8,73	8,36	11—24
Cu	12,54	12,78	5,62	4,32	9—14
Al	8,63	9,05	6,48	5,66	6—18
K	164,73	152,51	216,33	137,54	29—159
Na	791,10	884,79	516,04	733,60	73—331
Ca	847,39	1419,52	721,80	806,87	494—1619
Li	0,06*	0,034	0,04	0,02	0,00—0,02
Cr	2,65	2,43	0,68	0,82	0,32—0,96
Se	0,60*	0,51	0,17	0,17	0,69—2,51

Примечание. *различия между группами достоверны — $p < 0,05$.

ло, были четко выражены когнитивно-мнестические расстройства, а среди жалоб преобладали жалобы на снижение памяти. После лечения содержание Zn находилось в диапазоне референтных значений. Уменьшилось как число пациентов с отклонениями от нормы более чем в 1,5 раза (от 27% в контрольной группе до 7% в основной группе), так и максимальная величина этих отклонений (минимальное содержание Zn среди пациентов контрольной группы 16 мкг/г, среди пациентов основной группы — 89 мкг/г). Не исключено, что показанная положительная динамика неврологических нарушений, характерных для больных с дефицитом Zn, связана в том числе с нормализацией баланса по содержанию Zn.

После комплексной терапии с использованием мексидола и церебролизина нормализовалось содержание Mg: если в группе сравнения отмечается избыток Mg на 32% по сравнению с верхним пределом референтных значений, то в основной группе содержание Mg соответствует диапазону нормальных значений для здоровых. Поддержание баланса Mg/Ca составляет важную часть профилактической работы по борьбе с инсультом, особенно у больных с артериальной гипертензией [21, 22]. В волосах обследованных из группы больных с ХИМ II стадии после проведенного лечения не обнаружено статистически значимого изменения этого соотношения по сравнению с группой сравнения (0,121 и 0,127 соответственно). Повидимому, лечение по данной схеме является целесообразным с точки зрения профилактики инсульта.

Превышение содержания Mn по сравнению с верхним референтным пределом существенно уменьшилось (с 98 до 59%). По данным Центра биотической медицины, избыток Mn проявляется в повышенной утомляемости, ухудшении памяти, депрессии, замедленности и скованности движений, расстройстве походки и может привести к развитию энцефалопатии [23]. Подобные жалобы характерны для большинства больных с ХИМ. Приведенные данные об уменьшении степени выраженности этих не-

врологических расстройств хорошо согласуются с тенденцией уменьшения дисбаланса по Mn. Отметим, что повышенное, более чем в 5 раз, содержание Mn в волосах, которое, по нашим данным, может служить прогностическим критерием неблагоприятного течения болезни, не наблюдалось ни у одного из пациентов основной группы [16].

Дисбаланс Na, по данным литературы, не оказывает прямого влияния на цереброваскулярную патологию. Повышенное содержание Na в волосах отражает, как правило, нарушение водно-солевого обмена, дисфункцию коры надпочечников и может встречаться при сахарном диабете, нарушении выделительных функций почек, склонности к гипертонии [3, 23]. Артериальная гипертензия характерна для большинства больных с ХИМ. Уменьшение среднего содержания Na по сравнению с верхней границей референтных значений после комбинированной терапии с использованием мексидола и церебролизина с 221 до 139% может проявляться в регрессе признаков, связанных в том числе с нестабильностью артериального давления (головная боль, головокружение, шум, звон в голове).

Содержание микроэлементов Li и Cr после терапии с использованием мексидола и церебролизина по сравнению с контрольной группой достоверно увеличилось, однако оно остается значительно ниже порога токсичности. Этому мог способствовать, по-видимому, тот факт, что церебролизин может выступать как прямой «донор» этих элементов [10]. По этой же причине, возможно, уменьшился дефицит Se в группе, получавших церебролизин. Некоторый дефицит Se, выявленный у больных с ХИМ, может быть связан с относительно низким селеновым статусом населения Татарстана [24].

На основании данных клинико-неврологического обследования показана терапевтическая эффективность комплексного лечения 2-кратными курсами антиоксиданта мексидола в сочетании с полимодальным нейротрофическим, нейропротективным действием церебролизи-

на по схеме 6 нед лечения с 3-месячным интервалом. Использование комбинированного лечения мексидолом и церебролизином привело к достоверному улучшению когнитивных, адаптационных, двигательных функций пациентов с ХИМ II стадии.

Предложенная схема лечения с использованием мексидола и церебролизина способствовала нормализации микроэлементного баланса у пациентов с ХИМ II стадии, что, возможно, положительно повлияло на эффективность фармакологического воздействия препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Путилина М.В. Современные представления о терапии тревожно-депрессивных расстройств при хронической ишемии головного мозга. *Русский медицинский журнал*. 2011;9:569-573.
2. Левин О.С. Применение экстракта *Ginkgo biloba* (EGb 761) для лечения когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии. *Русский медицинский журнал*. 2009;17(20):1356-1361.
3. Громова О.А. Нейротрофическая система мозга: нейропептиды, макро- и микроэлементы, нейротрофические препараты. *Международный неврологический журнал*. 2007;2(12):94-107.
4. Гоголева И.В. Влияние органических солей лития, магния, селена на элементный гомеостаз головного мозга на фоне двусторонней хронической окклюзии общих сонных артерий: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2009. Доступно по: http://rsmu.ru/fileadmin/rsmu/documents/science/ucheni_sovet/news_2009_september/gogoleva_autoreferat.doc. Ссылка активна на 18.12.15.
5. Силина Е.В., Румянцева С.А., Орлова А.С. *Нарушение памяти и астения*. М.: Тактик-Студио; 2015.
6. Скоромец А.А., Мельникова Е.В., Голикова Р.В., Амелин А.В., Вавилов Т.В., Кадинская М.И. Рациональный подход к сосудистой терапии хронической недостаточности мозгового кровообращения. *Атмосфера. Нервные болезни*. 2005;1:29-31.
7. Смирнова И.Н., Федорова Т.Н., Танашян М.М., Суслина З.А. Клиническая эффективность и антиоксидантная активность мексидола при хронических цереброваскулярных заболеваниях. *Атмосфера. Нервные болезни*. 2006;1:33-36.
8. Нечипуренко Н.И., Верес А.И., Василевская Л.А., Пашковская И.Д. Микроэлементные и микродединамические нарушения у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией при использовании мексидола в комплексном лечении. *Неврология и нейрохирургия в Беларуси*. 2011;1(9):224-229.
9. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гоголева И.В. Механизмы нейротрофического и нейропротекторного действия препарата церебролизин при ишемии головного мозга. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2014;114:3(2):43-50.
10. Гусева М.Р. Нейропептидная терапия при атрофии зрительного нерва у детей. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2010;110:4:37-40.
11. Громова О.А., Скальный А.В., Панасенко О.М. Структурный анализ и ферментативная антиоксидантная активность нейрометаболических препаратов природного происхождения: церебролизина, церебролизата, биллобила и актовегина. *Микроэлементы в медицине*. 2001;2:23-27.
12. Торшин И.Ю., Громова О.А. Мульти-modalный эффект церебролизина против воинствующего редукционизма. *Неврологический вестник*. 2008;XL(3):83-91.
13. Белова А.Н. *Шкалы, тесты и опросники в неврологии и нейрохирургии*. М.: Самарский дом печати; 2004.
14. Коган О.Г., Шмидт И.Р., Заславский Е.С., Петров Б.Г., Безбородова В.А., Бобровникова Т.И. *Методические рекомендации для врачей-курсантов*. Новокузнецк. 1981.
15. Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983;67:361-370.
16. Бережная С.В., Якупов Э.З., Захаров Ю.А. Изменения содержания химических элементов в волосах больных хронической ишемией головного мозга. *Земский врач*. 2013;19(2):29-33.
17. Скальный А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО Центр биотической медицины). *Микроэлементы в медицине*. 2003;4(1):55-56.
18. Скальный А.В., Рудаков И.А. *Биоэлементы в медицине*. М.: ОНИКС XX век; Мир; 2004.
19. Сидоренко Е.В. *Методы математической обработки в психологии*. СПб.: ООО «Речь»; 2007.
20. Синяченко О.В., Стефаненко Е.П., Петрова В.Н., Пиклун В.Л., Мешерякова А.В., Алферов В.В. Содержание макро- и микроэлементов в волосах здоровых людей. *Вестник гигиены и эпидемиологии*. 2007;11(1):120-126.
21. Гусев Е.И., Скворцова В.И. *Ишемия головного мозга*. М.: Медицина; 2001.
22. Ding EL, Mozaffarian D. Optimal dietary habits for the prevention of stroke. *Semin Neurol*. 2006;26(1):11-23. doi: 10.1055/s-2006-933305.
23. Сайт «Центра биотической медицины». Доступно по: <http://www.microelements.ru/poleznaja-informatsija/o-mikroelementakh/321/>. Ссылка активна на 18.12.15.
24. Голубкина Н.А., Корчина Т.Я., Меркулова Н.Н., Пестин С.А., Таслицкий С.С. Селеновый статус Ханты-Мансийского автономного округа (Сургут). *Микроэлементы в медицине*. 2005;6(1):2-8.