

Leptin Hormonu ile Koroner Arter Hastalığı ve Bazı Risk Faktörleri Arasındaki İlişki

RELATIONSHIP BETWEEN LEPTIN, CORONARY HEART DISEASE AND SOME RISK FACTORS

Veli GÖKÇE*, Yücel UZUN*, Ahmet AKGÜL**, Mustafa Özcan SOYLU***, Ahmet Duran DEMİR***, Özcan ÖZDEMİR*, Gönül KOÇ****, Serdar GÜLER****, Emine KÜTÜK*****

- * Dr., Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniği,
** Dr., Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi KVC Kliniği,
*** Uzm.Dr., Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniği,
**** Uzm.Dr., Ankara Hastanesi Endokrinoloji Kliniği,
***** Doç.Dr., Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniği, ANKARA

Özet

Bu çalışma ile vücut enerji dengesi düzenleyicisi olan ve obezite patogeneğinde rol oynadığı düşünülen, obezite gen (Ob Gen) ürünü leptin ile koroner arter hastalığı (KAH) ve risk faktörleri arasındaki ilişki araştırıldı. Çalışmaya, 1998 yılı içinde Ankara Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniğine, KAH öntanısı ile yatırılan 121'i erkek (yaş ortalaması = 54,8 ±11) ve 44'ü kadın (yaş ortalaması = 55,9 ±11), ardışık 165 hasta alındı. Leptin düzeyleri erkeklerde 7,45 ± 7,1 mgr/L, kadınlarda 19,95±16,4 mgr/L olarak saptandı (p<0.001). Daha önce leptin ile yapılan çalışmalarda, kadınlardaki leptin düzeyi yüksekliği nedeninin, vücut yağ oranlarının erkeklerden daha fazla olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Ancak, kadınlardaki farklı olan vücut kitle indeksi ve vücut yağ yüzdesi düzeltilmesi yapıldıktan sonra da kadınlardaki leptin düzeyi erkekler göre 1.5-2 kat daha yüksek saptandı (p < 0.05). Hastaların yapılan koroner angiografilerinde erkeklerin 94'ünde (%77,7), kadınların 22'sinde (%52,4) KAH saptandı. Vücut kitle indeksi ile vücut yağ yüzdesi (r=0,77, p<0,001), bel-kalça oranı (r=0,34, p<0,001), Trigliserid düzeyi (r=0,21, p<0,05) ve leptin (r=0,52, p<0,001) arasında pozitif ilişki saptandı. Vücut yağ yüzdesi ile, trigliserid düzeyi (r=0,18, p<0,05), BKO (r=0,32, p<0,001) ve leptin (r=0,45, p<0,001) arasında pozitif ilişki mevcuttu. BKO ile leptin (r=0,22, p<0,05) ve fibrinojen (r=0,20, p<0,05) arasında pozitif ilişki saptandı. Leptin ve fibrinojen arasında ise negatif ilişki saptandı (r=-0,23, p<0,05). Leptin ile koroner arter hastalığı ve lipid parametreleri arasında ilişki saptanmadı. Ancak sigara içenlerde içmeyenlere göre leptin seviyesi ve vücut yağ yüzdesi daha düşük saptandı (p<0,01). Sonuç olarak; enerji metabolizmasının düzenleyicisi ve obezite gen ürünü olan leptin ile KAH ve lipid parametreleri arasındaki herhangi bir ilişki tespit edilemezken, leptin ile sigara ve fibrinojen arasında negatif ilişki, obezite göstergesi olan vücut yağ yüzdesi ve vücut kitle indeksi ile pozitif ilişki saptandı.

Anahtar Kelimeler: Leptin, Koroner arter hastalığı

T Klin Kardiyoloji 2001, 14:168-172

Summary

This study was designed to investigate the relationship between leptin (the regulator of energy metabolism and a product of obesity gene that is supposed to have a role in the pathogenesis of obesity) and coronary heart disease and some atherosclerotic risk factors. 165 patients (121 males with mean age of 54.8±11, 44 females with mean age of 55.9±11) considered to have coronary heart disease participated in this trial. Leptin levels averaged 7.45±7.1 µgr/l in male and 19.95±16.4µgr/l in female patients (p<0.001). Earlier studies with leptin suggest that this elevation of leptin in females might be due to their higher body fat indexes. However, after the correction of these values for body mass index and body fat index, leptin levels were still remained 1.5-2 fold higher in females as compared with males (p<0.05). Coronary angiography demonstrated that 94 (78%) male patients and 22 (52%) female patients had coronary heart disease. Body mass and body fat indexes (r=0.77, p<0.01), waist-hip ratio (r=0.34, p<0.001), triglyceride levels (r=0.21, p<0.05) and leptin levels (r=0.45, p<0.001) were all found to be positively correlated. But there was a negative correlation between leptin and fibrinogen levels (r= -0.23, p<0.05), there was no correlation between leptin and coronary heart disease and blood lipid levels. However, among smokers levels of leptin and of body fat index were lower than in non smokers (p<0.01). This study thus demonstrated that levels of leptin, a regulator of energy metabolism and a product of obesity gene, had no relation with coronary heart disease and leptin parameters, but there was a negative correlation between leptin levels and smoking and fibrinogen levels. It was also found that leptin levels were positively correlated with body fat index and body mass index that served as indicators of obesity.

Key Words: Leptin, Coronary heart disease

T Klin J Cardiol 2001, 14:168-172

Geliş Tarihi: 02.10.2000

Yazışma adresi: Dr.Ahmet AKGÜL
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi
KVC Kliniği, ANKARA

Leptin, son yıllarda keşfedilmiş, vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol alan, 16 kilodalton ağırlığında, 167 aminoasit içeren başlıca, beyaz yağ

dokusundan, az miktarda da kahverengi yağ dokusundan sentezlenip salınan protein yapısında bir hormondur (1-7). İnsan leptin geni 7q31 kromozomunda saptanmıştır (8). Leptin reseptörleri, hipotalamus, kalp, karaciğer, böbrek, pankreas, testis, yağ dokusu gibi değişik dokularda değişik oranlarda bulunmaktadır. Leptin JAK ve STAT-3 proteinleri aracılığı ile hücre içi etki yapmaktadır (9-11). Leptin dolaşımında %50 proteine bağlı, %50 serbest formda bulunur ve kan beyin bariyerini pasif difüzyonla geçer (12,13).

Yapılan çalışmalarda, leptin ile vücut kitle indeksi, bel/kalça oranı, insülin ve trigliserid düzeyleri arasında önemli korelasyon saptanmıştır (15). Obezite etyolojisinde önemli yeri olan leptinin direkt veya indirekt olarak koroner arter hastalığına etkisi kesin olarak belirlenmemiştir (14,15). Bu çalışmada,obesite etyolojisinde etkili olduğu gösterilen leptin hormonunun, koroner arter hastalığı (KAH) ve bazı risk faktörleri ile olan ilişkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem

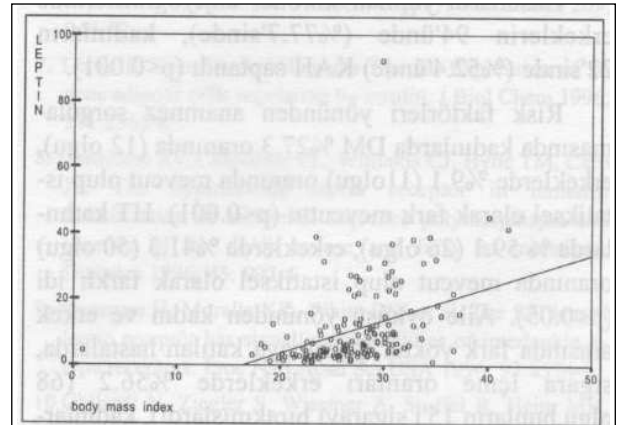
Çalışmaya, 1998 yılı içinde Ankara Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji bölümüne KAH ön tanısı ile yatırılan 121'i erkek (yaş ortalaması=54.8±11) ve 44'ü kadın (yaş ortalaması=55.9±11) toplam 165 hasta alındı. Hastaların fizik muayeneleri iki kardiyolog tarafından yapıldı. Anamnezde diabetes mellitus (DM), hipertansiyon (HT), sigara, aile öyküsü ve koroner arter hastalığı (KAH) öyküsü sorgulandı. Ek hastalıkları ve kullandıkları ilaçlar kaydedildi. Hastaları, obezite yönünden değerlendirmek için boy, kilo, bel kalça oranı, vücut yağ yüzdesi ölçüldü. Vücut kitle indeksi ise, hastanın ağırlığının hastanın yüzey alanına (m²) bölünmesi ile hesaplandı (kg/m²). Vücut yağ yüzdesi, FUTREX 5000A cihazı ile kol biceps kasından tekniğine uygun olarak infrared optik okuyucu ile ölçüldü. Hastalardan 12 saatlik açlıktan sonra biyokimya, lipid parametreleri ve leptin düzeyi için kan alındı. Düz tüpe alınan kanlar 5000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek, serumları ayrıldı. Biyokimyasal testler, Hitachi 911 otoanalizatörü ile Randox (trigliserid, kolesterol, üre, ürik asit), Teco diagnostik (glukoz), Boehringer Mannheim (HDL, kreatinin) kitleri ile çalışıldı. LDL düzeyi Friedewald formülü ile (LDL=Total kolesterol-(Trigliserid (TRG)/5 +HDL) hesapla-

arak bulundu. Leptin için ayrılan serum örnekleri, -20°C'de saklanıp toplu halde çalışıldı. Leptin düzeyleri, radyoimmünassay yöntemi ile İnsan leptin (Human Leptin RIA kit; Linco Research Inc., St. Louis, MO, USA) kiti kullanılarak gamma sayıcı cihaz ile ölçüldü. Leptin değerleri, vücut kitle indeksine bölünerek, leptinin vücut kitle indeksine göre düzeltilmesi yapıldı. Hastaların koroner anjiyografileri, Judkins tekniği ile yapıldı ve uzman iki kardiyolog tarafından değerlendirildi. Koroner anjiyografide, koroner arterlerde %50 ve üstünde darlık tespit edilen vakalarda KAH var olarak kabul edildi.

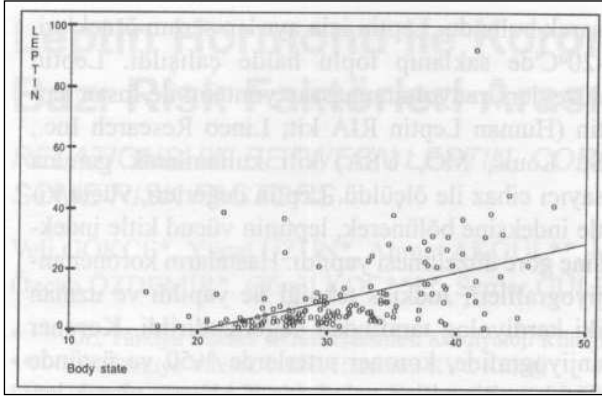
Çalışmada elde edilen veriler SPSS istatistik programı ile Fisher'in kesin Ki-kare testi, Spearman'ın Korelasyon katsayıları hesaplanarak, değişkenler arasındaki ilişkiler incelendi. Man-Whitney U testi, Student t testi, tek yönlü varyans analizi ve ona bağlı olarak student Newman-Kleus testi kullanıldı. İstatiksel değerlendirmelerde parametrik test varsayımlarını yerine getiren değişkenlerde parametrik testler kullanılırken, yerine getirmeyenlere nonparametrik testler uygulandı.İstatistiksel değerlendirmelerde p<0.05 değeri anlamlı olarak alındı.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hastaların 121'i erkek, 44'ü kadın idi. Hastaların yaş ortalaması erkeklerde 54.8±11 yıl, kadınlarda 55.9±11 yıl olarak saptandı ve aralarında istatistiksel fark yoktu (p>0.05). Vücut kitle indeksi, erkeklerde ortalama 26.7±3.5, kadınlarda 29.3±5.4 bulundu (p<0.001) (Şekil 1).



Şekil 1. Vücut kitle indeksi ve Leptin arasındaki korelasyon. p<0.001 r=0.42



Şekil 2. Vücut yağ yüzdesi (% body fat state) ile leptin ilişkisi. $P < 0.001$ $R = 0.39$

Vücut yağ yüzdesi, erkeklerde 28.6 ± 4 , kadınlarda 38.7 ± 4.5 olarak saptandı ($p < 0.001$) (Şekil 2). Bel kalça oranı erkeklerde 0.97 ± 0.1 , kadınlarda 0.87 ± 0.07 olarak bulundu ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$).

Total kolesterol düzeyi; erkeklerde 200.9 ± 48 mg/dl, kadınlarda 211.1 ± 51.1 mg/dl bulundu ($p > 0.05$). Trigliserid düzeyi erkeklerde 167.5 ± 106 mg/dl, kadınlarda 149.9 ± 68 mg/dl bulundu ($p > 0.05$). HDL kolesterol erkeklerde 38.7 ± 9.3 mg/dl, kadınlarda 44.9 ± 10.5 mg/dl bulundu ($p < 0.001$). LDL kolesterol erkeklerde 128.7 ± 40.2 mg/dl, kadınlarda 136.5 ± 48.7 mg/dl bulundu ($p > 0.05$).

Fibrinojen düzeyi erkeklerde 3.4 ± 1.3 mg/dl, kadınlarda 3.1 ± 1.1 mg/dl olarak bulundu ($p > 0.05$).

Leptin düzeyleri erkeklerde 7.4 ± 7.1 mg/L, kadınlarda 19.9 ± 16.4 mg/L saptandı ($p < 0.001$).

Hastaların yapılan koroner anjiyografilerinde erkeklerin 94'ünde (%77.7'sinde), kadınların 22'sinde (%52.4'ünde) KAH saptandı ($p < 0.001$).

Risk faktörleri yönünden anamnez sorgulamasında kadınlarda DM %27.3 oranında (12 olgu), erkeklerde %9.1 (11 olgu) oranında mevcut olup istatistiksel olarak fark mevcuttu ($p < 0.001$). HT kadınlarda % 59.1 (26 olgu), erkeklerde %41.3 (50 olgu) oranında mevcut olup istatistiksel olarak farklı idi ($p < 0.05$). Aile öyküsü yönünden kadın ve erkek arasında fark yoktu. Çalışmaya katılan hastalarda, sigara içme oranları erkeklerde %56.2 (68 olgu, bunların 15'i sigarayı bırakmışlardı), kadınlarda %6.8 (3 olgu) olarak saptandı ($p < 0.001$).

Erkeklerde sigara içme oranı (ortalama 1 paket/gün, 20 yıl süre) kadınlara göre daha yüksekti

Erkeklerde leptin ile vücut kitle indeksi ($r = 0.52$, $p < 0.001$) ve vücut yağ yüzdesi ($r = 0.45$, $p < 0.001$) arasında pozitif ilişki saptandı. Leptin ve fibrinojen arasında ise negatif ilişki saptandı ($r = -0.23$, $p < 0.05$). Leptin, KAH ve lipid parametreleri arasında ilişki saptanmadı. Ancak sigara içenlerde içmeyenlere göre leptin seviyesi ve vücut yağ yüzdesi daha düşük saptandı ($p < 0.01$).

Kadınlarda leptin ile vücut yağ yüzdesi ($r = 0.39$, $p < 0.01$) ve vücut kitle indeksi ($r = 0.37$, $p < 0.05$) arasında pozitif ilişki saptandı. Erkeklerden farklı olarak bel kalça oranı ve fibrinojen arasında ilişki yoktu. KAH ve lipid parametreleri arasında da ilişki bulunamadı.

Leptin ile vücut kitle indeksi ($r = 0.42$, $p < 0.001$), vücut yağ yüzdesi ($r = 0.51$, $p < 0.001$) arasında pozitif ilişki mevcuttu. Leptin ile fibrinojen ($r = -0.21$, $p < 0.001$) ve BKO ($r = -0.19$, $p < 0.05$) ile negatif ilişki vardı. Leptin ile KAH ve lipid parametreleri ile ilişki yoktu.

Tartışma

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, leptin ile vücut kitle indeksi, vücut yağ yüzdesi ve bel kalça oranı arasında ilişki varlığı tespit edilmiştir (16,17). Vücut enerji dengesinin bir göstergesi olan leptinin vücut yağ kitlesi göstergeleri ile bu yakın ilişki şaşırtıcı değildir. Bu çalışmada, vücut kitle indeksi, vücut yağ yüzdesi, bel kalça oranı arasında istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi. Ayrıca leptin kadınlarda erkeklere göre 2.7 kat yüksek bulunmuştur. Vücut yağ yüzdesine göre düzeltmeler yapıldıktan sonra leptinin kadınlardaki yüksekliği devam etmekteydi. Leptin düzeylerindeki saptanan seksüel farklılık, seks hormonları veya farklı vücut yağ dağılımı ile açıklanamıyordu. Kadınlarda leptinin lipostatik etkisine karşı rezistans bu farklılığı açıklayabilir (18). San Antonio Kalp Çalışmasında premenopozal ve post menopozal kadınlarda östrojen seviyesinin değişmesine rağmen leptin seviyesinde değişiklik saptanmamıştır (19). Ayrıca leptin subkutan yağ dokusundan daha çok salınmakta, ancak vücut yağ dağılımının değişmesi bazal leptin düzeyini değiştirmemektedir (20).

Benzer yaş grubu olmasına rağmen KAH erkeklerde daha çok saptandı. Koroner anjiyografileri yapılan erkek hastaların %77.7'sinde KAH tespit edilirken, kadınlarda bu oran %52.4 idi. Framingham Heart Study sonuçlarına göre erkeklerde, kadınlara göre KAH insidansı 2 kat daha yüksek saptanmıştı (21). KAH riski erkeklerde kadınlara göre on yıl daha erken başlamaktadır. Ancak kadınlarda menapoz ile birlikte KAH insidansı hızla artmaktadır. DM varlığı, kadınlarda KAH riskini erkeklere göre daha fazla artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmadaki vaka grubunda da kadınlarda daha fazla oranda ek hastalık mevcuttu. Koroner anjiyografi yapılmak üzere KAH şüphesiyle servise kabul edilen kadın hastalarda %27.3 DM ve %59.1'inde HT varken erkeklerin %9.1 DM, %41.3'ünde HT mevcuttu. Framingham çalışmasında DM lu kadınlarda risk artışının trigliserid yüksekliği ve HDL kolesterol düşüklüğü ile ilgili olabileceği belirtilmiştir (22). Bu çalışmadaki vaka grubunda DM olan kadın hastalarda olmayanlara göre trigliserid düzeyi istatistiksel olarak daha yüksek saptandı; HDL kolesterol seviyeleri arasında ise fark saptanmadı. Ayrıca HDL kolesterol kadınlarda erkeklerden daha yüksek saptandı, istatistiki olarak da anlamlı idi. Diğer lipid parametreleri bakımından cinsiyet farklılığı yoktu. Burada, yüksek HDL'nin, kadınlarda koruyucu etkisi olabilir. Leptin ile KAH ve hiperlipidemi arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.

Fibrinojen düzeyi ile leptin arasında zayıf negatif korelasyon mevcuttur ($p < 0.05$, $r = -0.23$). Şimdiye kadar yayımlanan çalışmalarda bu konuyla ilgili bulguya rastlanmamıştır. Yalnızca leptin ile plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) düzeyiyle kuvvetli bir korelasyon varlığını gösteren yayın mevcuttur (25). Fakat bu çalışmadaki negatif korelasyonu açıklamamaktadır.

Bu çalışmada, leptin ile sigara arasında negatif korelasyon saptandı. Sigara, modifiye edilebilir önemli risk faktörlerinden biridir. Bu çalışmada erkeklerde sigara içme oranı belirgin olarak yüksekti (%43.8-%6.8). Ayrıca sigara içenlerde KAH belirgin olarak yüksekti. Sigara içenlerin %83.9'unda KAH vardı. Sigara, içindeki toksik maddelerle trombozu, aterosklerozu, LDL'yi, fibrinojeni artırmakta ve koroner vazospazma neden olarak koroner arter hastalığı riskini artırmaktadır (23)

Sigara içenlerde lipid parametreleri yönünden fark bulunmazken gerek vücut yağ yüzdesi, gerekse leptin seviyesi daha düşük saptandı. Bu da sigara içenlerdeki total yağ kitlesinin düşük olmasıyla açıklanabilir. Ayrıca çalışmalarda sigara içenlerde, içmeyenlere göre leptin duyarlılığının arttığı saptanmıştır (24).

Sonuç olarak; enerji metabolizmasının düzenleyicisi ve obez gen ürünü olan leptin ile koroner arter hastalığı ve lipid profili arasında bir ilişki saptanamazken, sigara ve fibrinojen ile negatif korelasyon, obezite göstergesi olan vücut yağ yüzdesi ve vücut kitle indeksi gibi risk faktörleri ile pozitif korelasyon saptandı. Leptin ile KAH ve risk faktörleri ilişkisi, obez ve obez olmayan geniş vaka gruplarında yapılacak olan kontrollü prospektif çalışmalar ile daha iyi anlaşılacaktır.

KAYNAKLAR

1. Zhang Y, Proence R, Maffer M, et. al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue; Nature 1994; 372: 425-32.
2. Madhur K Sinha. Human leptin: the hormon of adipose tissue. European Journal of Endocrinology 1997; 136: 461-4.
3. Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N et al. Human obese gene expression: Adipocyte -specific expression and regional differences in the adipose tissue. Diabetes 44:855-8.
4. Maffei M, Fei H, Lee GH et al. Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. Proc Natl Acad Sci USA 92:6957-60.
5. Ogawa Y, Masuzaki H, Isse N et al. Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty (fa/fa) rat. J Clin Invest 96:1647-52.
6. Murakami T, Shima K. Cloning of rat obese cDNA and its expression in obese rat. Biochem Biophys Res Comm 209: 944-52.
7. Leroy P, Dessolin S, Villageois P et al. Expression of ob gene adipose cells regulation by insulin. J Biol Chem 1996; 271:2365-8.
8. Considine RV, Canoidine EL, Williams CJ, Hyde TM, Caro JF. The hypothalamic leptin receptor in humans. Identification of incidental sequence polymorphism and absence of the db/db mouse and fa/fa fat mutations. Diabetes 1996; 45: 992-4.
9. Baumann H, Morella KK, White DW et al. The full length leptin receptor has signalling capabilities of interleukin 6-type receptors. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:8374-8.
10. Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC. Defective STAT signalling by the leptin receptor in diabetic mice. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:6231-5.

11. Vaisse C, Halaas JL, Horvath CM, Darnell JE, Stoffel M, Freidman JM. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nat Genet* 1996; 14:95-7.
12. Klein S, Coppack SW, Mohammed Ali V, Laund M. Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 1996; 45: 984-7.
13. Caro JF, Kolaczynsy JV, Nyce MR. Decreased cerebrospinal fluid / serum leptin ratio in obesity a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
14. William G. H. Sympatetic and Cardiorenal actions of leptin. *Hypertension* 1997, 619-23.
15. Johannes B, et al. Leptin is related to trygliseride levels, independetly of gender, BMI, waist circumference and insulin. *Diabetes* 1997; 46; 860-7.
16. Condizine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive leptin concentratin in normal weight and obese humans. *New Eng Med* 1996; 42: 942-6.
17. Friedman JM, Leibel RL. Tackling a weighty problem. *Cell* 1992;69:217-20.
18. Saad MF, Damani S, Gingerich RL, et al. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endo Met* 1997; 579-89.
19. Haffner SM, Mykkänen L, Stern MP. Leptin concentrations in women in the San Antoni Heart Study. Effect of menopausal status and postmenopausal hormone replacement therapy. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 581-5.
20. Allen LS, Hines M, Shryne JE, Gorski RA. Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci* 1989; 9:497-506.
21. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart. *N Eng J Med* 1990; 322:1561-6.
22. Kannel WB, D'Agostino RB, Wilson PW, et al. Diabetes, fibrinogen and risk of cardiovascular disease. Framingham experience. *Am Heart J* 1990;120, 672-6.
23. Sugiishi M. and Takatsu F. Cigarette smoking is a major risk factor for coronary spasm. *Circulation* 1993; 87:76.
24. Walley D. Serum leptin level in cigarette smoking. Comment on: *Ann Epidemiol* 1997 : 79-80.
25. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbhone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* 1997 ; 46: 860-7.