

# Uso de mitomicina C em neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival: modalidades de abordagem - relato de casos

*Use of mitomycin C for corneal-conjunctival intraepithelial neoplasia: management options - case reports*

Régis Santana de Figueirêdo<sup>1</sup>  
Eugênio Santana de Figueirêdo<sup>2</sup>

## RESUMO

São relatados três casos de neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival nos quais a mitomicina C foi utilizada em abordagens distintas de acordo com a situação clínica encontrada. Os pacientes selecionados foram atendidos no Departamento de Oftalmologia da Casa de Saúde Santo Inácio, com diagnóstico clínico e/ou histopatológico de neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival. Com base na apresentação clínica das lesões, utilizou-se a mitomicina C a 0,04% em três abordagens terapêuticas distintas: 1) quimioablação pós-operatória; 2) quimiorredução pré-operatória; e 3) quimioablação isolada. Obteve-se regressão da lesão tumoral nos três casos, sem recorrência em tempo de seguimento variando de 18-29 meses. Hiperemia conjuntival em um dos casos foi a única complicação observada. A mitomicina C mostrou-se eficaz e segura para tratamento de neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival, possibilitando várias abordagens terapêuticas de acordo com as características das lesões.

**Descritores:** Neoplasias oculares/quimioterapia; Neoplasias da conjuntiva/quimioterapia; Mitomicina/uso terapêutico; Epitélio da córnea/patologia; Neoplasias da conjuntiva/cirurgia; Relatos de casos [tipo de publicações]

## INTRODUÇÃO

A neoplasia intra-epitelial e o carcinoma espinocelular de córnea e de conjuntiva são os tumores mais comuns da superfície ocular<sup>(1)</sup>. A classificação dessas neoplasias é feita de acordo com a sua localização em relação à membrana basal epitelial. Dessa forma, esses tumores são divididos em neoplasia intra-epitelial conjuntival e/ou corneal (NIC), quando estão confinados ao epitélio, e em carcinoma espinocelular (CEC), quando há invasão da membrana basal epitelial e da substância própria<sup>(2)</sup>.

A distinção clínica entre NIC e CEC é difícil<sup>(3)</sup>. As manifestações clínicas de NIC e de CEC podem ser sensação de corpo estranho, irritação ocular, hiperemia conjuntival e crescimento de lesões papilares gelatinosas ou leucodisplásicas, geralmente acompanhadas por vasos nutritores, preferencialmente na região límbica<sup>(4)</sup>. As NIC possuem evolução lenta e baixo potencial de malignidade, não sendo conhecida a exata frequência de progressão para CEC<sup>(4)</sup>.

A etiologia de NIC e de CEC parece ser multifatorial<sup>(4)</sup>. Entre os fatores de risco propostos, podem ser citados idade avançada<sup>(2)</sup>, exposição a raios ultravioleta<sup>(2,5-6)</sup>, derivados do petróleo (gasolina e diesel), fumaça de cigar-

Trabalho realizado no Departamento de Oftalmologia da Casa de Saúde Santo Inácio - Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte.

<sup>1</sup> Professor da disciplina de Oftalmologia da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte - FMJ - Juazeiro do Norte (CE) - Brasil. Ex-fellow do Serviço de Córnea do Wills Eye Hospital - Filadélfia - Pensilvânia - EUA. Mestrando em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará - UFC - Fortaleza (CE) - Brasil.

<sup>2</sup> Médico residente do 2º ano na Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - Campinas (SP) - Brasil.

**Endereço para correspondência:** Régis Santana de Figueirêdo. Rua Conceição, 513 - Centro - Juazeiro do Norte (CE) CEP 63010-220  
E-mail: santana@netcariri.com.br

Recebido para publicação em 27.08.2004  
Versão revisada recebida em 05.01.2006  
Aprovação em 15.02.2006

ros e infecção pelo papilomavírus humano (HPV)<sup>(2)</sup> e pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)<sup>(7-8)</sup>.

A excisão cirúrgica é considerada a terapia de escolha para os casos de NIC e CEC<sup>(4)</sup>, sendo a ressecção incompleta o maior fator de risco para o insucesso terapêutico<sup>(2-3,9)</sup>. Tratamentos adjuvantes, tais como crioterapia e radiação, tem sido empregados na tentativa de reduzir a recidiva pós-ressecção cirúrgica<sup>(4)</sup>. Outra modalidade recentemente empregada como terapia primária ou adjuvante é o uso de agentes quimioterápicos, como interferons, mitomicina C e 5-fluoracil, sendo úteis na doença difusa, além de evitarem as complicações associadas à intervenção operatória<sup>(4)</sup>.

A mitomicina C (MMC) atua inibindo a síntese do DNA, sendo mais eficaz em células com divisão rápida<sup>(10)</sup>. Esse agente tem sido utilizado como adjuvante para excisão de NIC e de CEC no pré-operatório<sup>(11)</sup>, no intra-operatório<sup>(11-12)</sup> e no pós-operatório<sup>(13)</sup>. Por outro lado, há estudos que recomendam seu uso como terapia primária para NIC/CEC, mesmo na doença recorrente<sup>(10,14-17)</sup>.

O objetivo do presente artigo é relatar os resultados obtidos com uso de MMC no tratamento de NIC em três abordagens terapêuticas distintas: quimioablação pós-operatória tardia, quimiorredução pré-operatória e quimioablação como terapia primária exclusiva.

## MÉTODOS

Foram selecionados três pacientes, atendidos no Departamento de Oftalmologia da Casa de Saúde Santo Inácio, com diagnóstico clínico e/ou histopatológico de NIC (Tabela 1). Nos três casos, foi utilizada MMC a 0,04%. Em 1 paciente, foi realizada quimioablação pós-operatória; em 1 paciente, foi realizada quimiorredução pré-operatória; e em 1 paciente, foi realizada quimioablação isolada como terapia primária.

## RELATO DE CASOS

### Caso 1

Paciente com 91 anos, sexo masculino, agricultor aposentado, procedente de Campos Sales - Ceará (CE), pseudofácico no olho direito (OD) havia um ano e cinco meses, retornou à consulta em dezembro de 2002, queixando-se de sensação de corpo estranho neste olho. A acuidade visual na ocasião era

de 20/40 em OD e de 20/200 em olho esquerdo (OE). Na biomicroscopia, era observada sutura exposta de nylon 10-0 em 1 hora, e chamava a atenção uma lesão de aspecto gelatinoso sobre um pterígio nasal atrófico, ultrapassando o limbo nasal. Tal lesão era ausente na consulta anterior em outubro de 2001. O diagnóstico clínico foi de NIC. A conduta terapêutica realizada em janeiro de 2003 consistiu de ressecção cirúrgica com margens de segurança, usando a abordagem "no touch technique", descrita por Shields<sup>(18)</sup>, com prévia aplicação de álcool absoluto, embebido em esponja de celulose por toda a superfície visível da lesão. Optou-se por não se usar crioterapia. A peça cirúrgica foi enviada para estudo histopatológico. No pós-operatório, foram usados antibiótico e corticóide tópicos, além de lubrificantes.

O estudo histopatológico revelou tratar-se de carcinoma "in situ" da conjuntiva (NIC III), com margens cirúrgicas livres.

No sexto mês de pós-operatório, observou-se crescimento de epitélio grosseiro nos 3,3 mm periféricos do setor nasal superior. A possibilidade de recorrência da displasia epitelial foi considerada como primeira hipótese diagnóstica e sugeriu-se quimioablação com MMC a 0,04%. Em julho de 2003 iniciaram-se ciclos de MMC quatro vezes ao dia por sete dias, intercalados por intervalos de sete dias sem medicação, em um total de dois ciclos. Houve total regressão do epitélio anormal ao final do último ciclo.

Na última revisão, em dezembro de 2005, o epitélio córneo-conjuntival era totalmente regular e não se observavam sinais de recorrência de NIC e a acuidade visual era mantida.

### Caso 2

Paciente com 91 anos, sexo feminino, doméstica aposentada, procedente de Crato - CE, compareceu à consulta em novembro de 2003, referindo surgimento de carnosidade em olho direito havia cerca de 3 meses, acompanhada de sensação de corpo estranho. A acuidade visual em OD foi conta dedos a 1 m e em OE, 20/150. Na biomicroscopia, observava-se esclerose de cristalino em ambos os olhos (AO) (3+/4+) e a presença de lesão de aspecto papilar em torno de pterígio temporal, ultrapassando a região limbar temporal em OD (Figura 1). O diagnóstico clínico foi de CEC. O plano terapêutico foi realizar a quimiorredução pré-operatória com MMC a 0,04%, seguida de ressecção cirúrgica da lesão remanescente. A paciente foi orientada a utilizar MMC quatro vezes ao dia por uma semana, intercalando uma semana sem uso da medicação, em um total de quatro ciclos semanais.

Tabela 1. Perfil dos pacientes descritos

Casos	Idade (anos)	Sexo	Profissão	Olho acometido	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico
Caso 1	91	Masculino	Agricultor aposentado	OD	NIC	NIC
Caso 2	91	Feminino	Doméstica aposentada	OD	CEC	NIC
Caso 3	53	Feminino	Do lar	OD	NIC	-

NIC= neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival; CEC= carcinoma espinocelular; OD= olho direito

Em janeiro de 2004, após concluir os ciclos da medicação, a paciente retornou para revisão, sendo observada considerável redução da massa tumoral à biomicroscopia. Foi orientada a realizar dois novos ciclos semanais de MMC a 0,04% quatro vezes ao dia intercalados por uma semana sem uso da medicação.

Em março de 2004, paciente retornou para nova revisão, apresentando regressão da lesão tumoral em relação à consulta anterior (Figura 2). Após prévia aplicação de álcool absoluto embebido em esponja de celulose, foi realizada exérese do pterígio em OD e da lesão displásica remanescente, com emprego de margens de segurança, usando a abordagem “no touch technique”, sugerida por Shields<sup>(18)</sup>. Durante o procedimento, foi confeccionado um retalho conjuntival superior (Figura 3) para preencher o espaço criado durante a ressecção. Na sutura do retalho, foi utilizado fio de seda 8-0. A peça cirúrgica foi enviada para estudo histopatológico. No pós-operatório, foram usados antibiótico e corticóide tópicos, além de lubrificantes. O estudo histopatológico demonstrou a presença de lesão intra-epitelial conjuntival de baixo grau (NIC) e de conjuntivite crônica inespecífica, compatível com pterígio.

Paciente compareceu no primeiro mês de pós-operatório, em abril de 2004, apresentando epitélio córneo-conjuntival com aspecto regular e sem sinais de recorrência de NIC (Figura 4). A acuidade visual estava mantida. Em agosto de 2005, na última revisão, o aspecto biomicroscópico da superfície ocular não exibia alterações.

### Caso 3

Paciente com 53 anos, sexo feminino, do lar, procedente de Crato - CE, retornou à consulta em fevereiro de 2004, referindo sensação de corpo estranho em OD há cerca de um mês. A acuidade visual era de 20/20 com correção em AO. Na biomicroscopia, observavam-se pingüécula nasal bilateral e a presença de lesão gelatinosa, que ultrapassava a região limbar nasal de OD (Figura 5). O diagnóstico clínico da lesão foi de NIC. O plano terapêutico instituído foi a quimioablação com uso tópico de MMC a 0,04%. Tal medicação foi prescrita para uso em quatro vezes ao dia durante uma semana, intercalada por uma semana sem uso, e repetição do esquema na semana subsequente, em um total de dois ciclos.

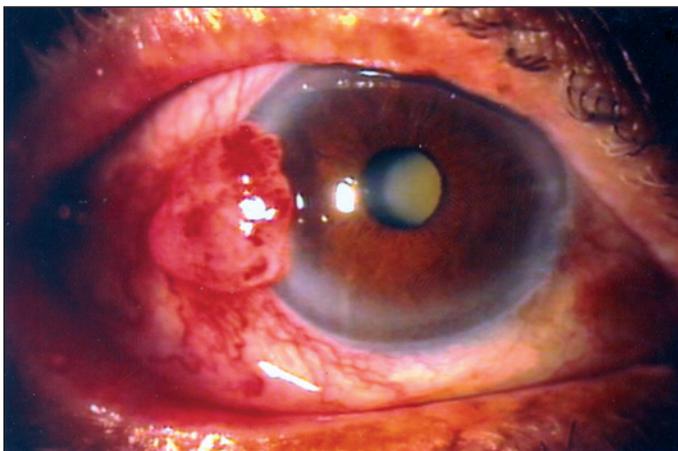


Figura 1 - Lesão com aspecto papilar ultrapassando região limbar temporal de olho direito



Figura 3 - Aspecto ocular após ressecção cirúrgica da lesão displásica remanescente e confecção de retalho conjuntival

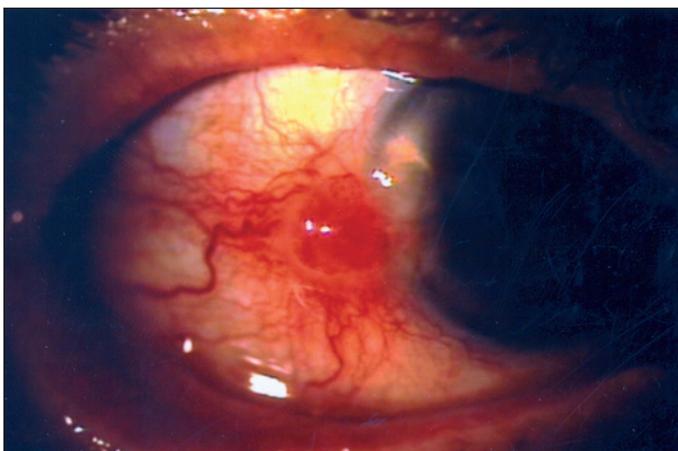


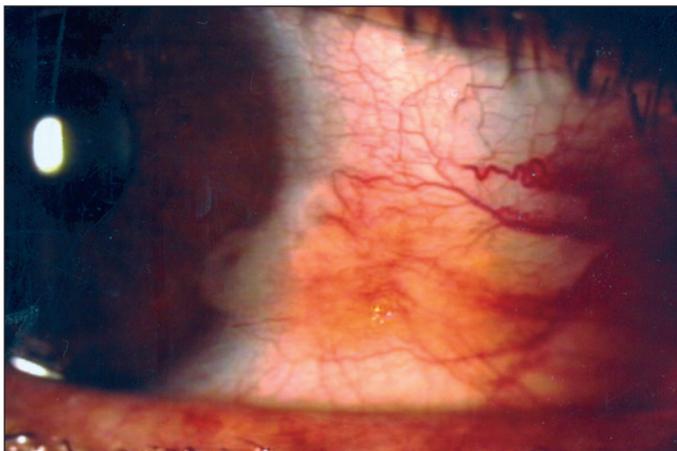
Figura 2 - Aspecto da lesão displásica após aplicação de seis ciclos de mitomicina C a 0,04%



Figura 4 - Epitélio córneo-conjuntival regular sem sinais de recorrência pós-operatória de NIC

Paciente retornou para revisão em março de 2004, tendo concluído o primeiro ciclo de MMC a 0,04%. Referia melhora da sensação de corpo estranho em OD e queixava-se de hiperemia conjuntival no mesmo olho após início da medicação. Na biomicroscopia, apresentava involução quase total do tecido displásico. Foi orientada a suspender MMC a 0,04% e a fazer uso de lubrificantes e de corticóide tópico por uma semana.

Em abril de 2004, paciente retornou exibindo ausência de hiperemia conjuntival. Na biomicroscopia, apresentava epitélio córneo-conjuntival sem irregularidades e sem sinais de recidiva da NIC. A acuidade visual estava mantida.



**Figura 5 - Lesão gelatinosa ultrapassando região limbar nasal de olho direito**



**Figura 6 - Aspecto ocular, sem sinais de recorrência de NIC, após uso isolado de um ciclo de mitomicina C a 0,04%**

Paciente compareceu para revisão em maio de 2004 sem queixas e sem sinais de recidiva da NIC à biomicroscopia (Figura 6), quadro que se manteve até a última visita em dezembro de 2005.

## DISCUSSÃO

Os pacientes 1 e 2 apresentavam como fator de risco para desenvolvimento de NIC a idade avançada<sup>(2)</sup>. A exposição aos raios ultravioleta<sup>(2,5-6)</sup> era um fator comum aos três casos, já que os pacientes residem no Nordeste brasileiro.

Evidências histológicas demonstram que a MMC tem capacidade de erradicar células tumorais<sup>(4)</sup>. A concentração de MMC tópica utilizada atualmente para tratamento de NIC é controversa<sup>(17)</sup>, variando entre 0,02 e 0,04%, com pouca diferença entre as duas apresentações em relação à taxa de recorrência e ao tempo de resolução da doença<sup>(19)</sup>. Como a maioria dos estudos utiliza MMC a 0,04%<sup>(4)</sup>, optou-se pelo uso dessa apresentação nos casos relatados.

As abordagens terapêuticas para uso da MMC são bastante variadas<sup>(4)</sup>. Como bons resultados têm sido obtidos tanto com a terapia adjuvante à excisão cirúrgica quanto com uso isolado em doença primária e recorrente<sup>(10,14-16)</sup>, foram utilizadas três abordagens diferentes usando MMC a 0,04%: quimiorredução pré-operatória (caso 1), quimioablação pós-operatória tardia (caso 2) e quimioablação como terapia primária exclusiva (caso 3). Nas três situações, a conduta terapêutica baseou-se no aspecto clínico de cada uma das lesões apresentadas, com resultados satisfatórios (Tabela 2).

No caso 1, apesar de o exame histopatológico ter demonstrado margens cirúrgicas livres, houve recorrência da lesão, tornando necessária a quimioablação pós-operatória com MMC a 0,04%. Evidências mostram que 5 a 33% das ressecções cirúrgicas de NIC com margens livres apresentam recidiva<sup>(3,9)</sup>. Alguns autores publicaram uma série de 9 casos de NIC nos quais o manejo terapêutico incluiu ressecção cirúrgica seguida do uso tópico pós-operatório de MMC cujo seguimento que variou de 11 a 48 meses (média de 27,2 meses)<sup>(20)</sup>. Logrou sucesso duradouro em 8 pacientes, observando apenas 1 caso de recidiva tardia no 14º mês após a quimioterapia.

No caso 2, os diagnósticos clínico e histopatológico foram diferentes. Ressalte-se que o exame histopatológico foi realizado após os ciclos de MMC a 0,04% (quimiorredução pré-operatória). Nessas circunstâncias, o estudo histopatológico

**Tabela 2. Resultados obtidos nos casos relatados com uso de MMC no tratamento de NIC**

Casos	Abordagem	Nº de ciclos	Concentração	Complicações	TS (meses)	Recorrência
Caso 1	Quimioablação pós-operatória	2	0,04%	Não	29	Não
Caso 2	Quimiorredução pré-operatória	6	0,04%	Não	18	Não
Caso 3	Quimioablação isolada	1	0,04%	Hiperemia conjuntival	23	Não

MMC= mitomicina C; NIC= neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival; TS= tempo de seguimento após última intervenção

pode até não detectar as células neoplásicas, que podem ter sido erradicadas pela quimioterapia prévia<sup>(21)</sup>.

As complicações do uso tópico da MMC podem ser dor ocular, hiperemia conjuntival e palpebral, erosões epiteliais focais, fotossensibilidade, blefaroespasma e oclusão do ponto lacrimal inferior<sup>(4)</sup>. Somente no caso 3, observou-se hiperemia conjuntival, que regrediu após suspensão do colírio. As demais complicações não foram observadas nos três casos relatados. Diante da possibilidade de oclusão do ponto lacrimal inferior pelo uso da MMC, recomenda-se o uso de oclusores sintéticos de silicone para prevenir tal complicação<sup>(22)</sup>. Nos casos apresentados, essa medida não foi adotada.

O maior tempo de seguimento livre de recorrência nos casos apresentados foi de 29 meses. Na literatura internacional sobre uso de MMC no tratamento das NIC, somente cerca de 22% dos casos relatados apresentavam seguimento maior que 24 meses<sup>(4)</sup>, evidenciando pouca experiência com essa abordagem a longo prazo, tanto em relação à eficácia e à eficiência quanto sobre os efeitos adversos e as complicações tardias. Adicionalmente, os relatos já publicados contêm um pequeno número de pacientes<sup>(23)</sup>, muitos dos quais sem evidências de recidiva<sup>(13,15,17)</sup>, e, em se tratando de NIC, a lesão tumoral pode recorrer até mais de uma década após o tratamento<sup>(9)</sup>.

O uso tópico de MMC a 0,04% mostrou-se, em um primeiro momento, seguro e eficaz para tratamento de NIC nas três modalidades terapêuticas apresentadas, demonstrando abordagens distintas para tratamento de tal doença ocular. Este artigo procura estimular o desenvolvimento de novos estudos que investiguem o momento ideal para uso de MMC em casos de NIC, assim como sua eficácia terapêutica e complicações a longo prazo.

#### ABSTRACT

Three cases of corneal-conjunctival intraepithelial neoplasia treated differently with mitomycin C based on clinical presentation are reported. The selected patients were followed at the Department of Ophthalmology of the Casa de Saúde Santo Inácio. According to the clinical appearance of the lesions, 0.04% mitomycin C was employed in three different ways: 1) postoperative chemoablation; 2) preoperative chemoreduction; and 3) isolated chemoablation. Regression of the neoplastic lesion was observed in all cases with no recurrence detected during a follow-up time ranging from 18 to 29 months. Conjunctival hyperemia was the single side effect. The use of mitomycin C seems to be efficient and safe for the treatment of corneal-conjunctival intraepithelial neoplasia under several approaches.

**Keywords:** Eye neoplasms/drug therapy; Conjunctival neoplasms/drug therapy; Mitomycin/therapeutic use; Corneal epithelium/pathology; Conjunctival neoplasms/surgery; Case reports [publication type]

#### REFERÊNCIAS

- Grossniklaus HE, Green WR, Luckenbach M, Chan CC. Conjunctival lesions in adults. A clinical and histopathologic review. *Cornea*. 1987;6(2):78-116.
- Lee GA, Hirst LW. Ocular surface squamous neoplasia. *Surv Ophthalmol*. 1995;39(6):429-50.
- Erie JC, Campbell RJ, Liesegang TJ. Conjunctival and corneal intraepithelial and invasive neoplasia. *Ophthalmology*. 1986;93(2):176-83.
- Giaconi JA, Karp CL. Current treatment options for conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia. *Ocul Surface*. 2003;2:66-73.
- Newton R, Ferlay J, Reeves G, Beral V, Parkin DM. Effect of ambient solar ultraviolet radiation on incidence of squamous-cell carcinoma of the eye. *Lancet*. 1996;347(9013):1450-1.
- Lee GA, Williams G, Hirst LW, Green AC. Risk factors in the development of ocular surface epithelial dysplasia. *Ophthalmology*. 1994;101(2):360-4.
- Smith JR, Kitchen VS, Botcherby M, Hepburn M, Wells C, Gor D, et al. Is HIV infection associated with an increase in the prevalence of cervical neoplasia? *Br J Obstet Gynaecol*. 1993;100(2):149-53.
- Vermund SH, Kelley KF, Klein RS, Feingold AR, Schreiber K, Munk G, et al. High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intraepithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165(2):392-400.
- Tabin G, Levin S, Snibson G, Loughnan M, Taylor H. Late recurrences and the necessity for long-term follow-up in corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia. *Ophthalmology*. 1997;104(3):485-92. Comment in: *Ophthalmology*. 1997;104(10):1531.
- Wilson MW, Hungerford JL, George SM, Madreperla SA. Topical mitomycin C for the treatment of conjunctival and corneal epithelial dysplasia and neoplasia. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(3):303-11. Comment in: *Am J Ophthalmol*. 1997;124(3):381-3.
- Kemp EG, Harnett AN, Chatterjee S. Preoperative topical and intraoperative local mitomycin C adjuvant therapy in the management of ocular surface neoplasias. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(1):31-4.
- Siganos CS, Kozobolis VP, Christodoulakis EV. The intraoperative use of mitomycin-C in excision of ocular surface neoplasia with or without limbal autograft transplantation. *Cornea*. 2002;21(1):12-6. Erratum in: *Cornea*. 2003; 22(2):189. Erratum in: *Cornea*. 2003;22(2):189. Comment in: *Cornea*. 2002;21(8):840-1; author reply 841-2.
- Akpek EK, Ertoy D, Kalayci D, Hasiripi H. Postoperative topical mitomycin C in conjunctival squamous cell neoplasia. *Cornea*. 1999;18(1):59-62.
- Heigle TJ, Stulting RD, Palay DA. Treatment of recurrent conjunctival epithelial neoplasia with topical mitomycin C. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(3):397-9. Comment in: *Am J Ophthalmol*. 1997;124(3):381-3.
- Shields CL, Naseripour M, Shields JA. Topical mitomycin C for extensive, recurrent conjunctival-corneal squamous cell carcinoma. *Am J Ophthalmol*. 2002; 133(5):601-6. Comment in: *Am J Ophthalmol*. 2003;135(1):122-3; author reply 123-4.
- Frucht-Pery J, Sugar J, Baum J, Sutphin JE, Pe'er J, Savir H, et al. Mitomycin C treatment for conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia: a multicenter experience. *Ophthalmology*. 1997;104(12):2085-93.
- Ballalai PL, Gomes JA, Santos MS, Freitas D, Ervenne CM, Rigueiro M. Uso de mitomicina C tópico no tratamento da neoplasia intra-epitelial córneo-conjuntival e carcinoma espinocelular conjuntival - Resultados preliminares. *Arq Bras Oftalmol*. 2003;66(5):559-62.
- Shields JA, Shields CL. Premalignant and malignant tumors of the conjunctival epithelium. In: Shields JA, Shields CL. Atlas of eyelid and conjunctival tumors, atlas of intraocular tumors and atlas of orbital tumors. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1999.
- Daniell M, Maini R, Tole D. Use of mitomycin C in the treatment of corneal conjunctival intraepithelial neoplasia. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2002;30(2):94-8.
- Cartsburg O, Kersten A, Sundmacher R, Nadjari B, Pomjanski N, Bocking A. [Treatment of 9 squamous epithelial carcinoma in situ lesions of the conjunctiva (CIN) with mitomycin C eyedrops in cytological and DNA image cytometric control] *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 2001;218(6):429-34. German.
- Frucht-Pery J, Rozenman Y, Pe'er J. Topical mitomycin-C for partially excised conjunctival squamous cell carcinoma. *Ophthalmology*. 2002;109(3):548-52.
- Shields CL, Shields JA. Tumors of the conjunctiva and cornea. *Surv Ophthalmol*. 2004;49(1):3-24.
- Wilson MW, Czechonska G, Finger PT, Rausen A, Hooper ME, Haik BG. Chemotherapy for eye cancer. *Surv Ophthalmol*. 2001;45(5):416-44.