

聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎疗效的影响因素

杨炜炜

【摘要】目的 探讨聚乙二醇化干扰素(PegIFN)联合利巴韦林(RBV)治疗慢性丙型肝炎疗效的影响因素。**方法** 回顾性分析2008年1月至2011年12月于宝鸡市中心医院接受PegIFN和RBV联合治疗的148例HCV感染者的临床资料。采用持续性病毒应答24周(SVR24)、早期病毒学应答(EVR)、治疗结束病毒应答(ETR)、持续性病毒应答12周(SVR12)、复发、无效应答、病毒学突破评估疗效, Logistic回归分析影响疗效的因素。**结果** 148例HCV感染者失访12例(8.1%)。136例HCV感染者中128例(94.1%)患者出现EVR、118例(86.8%)患者出现ETR、114例(83.8%)患者出现SVR12、112例(82.4%)患者出现SVR24、8例(5.9%)患者无效应答、6例(4.4%)患者复发、4例患者出现病毒学突破(2.9%)。HCV RNA、HCV基因型和UA均为影响HCV感染者SVR24的因素(P 均 < 0.05)。**结论** PegIFN联合RBV治疗HCV感染疗效显著。HCV基因型2/3、HCV RNA水平较低和尿酸与HCV SVR相关。

【关键词】 肝炎, 丙型; 聚乙二醇化干扰素; 利巴韦林; 血尿酸

Influencing factor on the efficacy of combined treatment of pegylated interferon- α and ribavirin in patients with chronic hepatitis C Yang Weiwei. Department of Infectious Diseases, Central Hospital of Baoji, Baoji 721008, China

Corresponding author: Yang Weiwei, Email: yangweiwei8589@163.com

【Abstract】Objective To evaluate the influencing factors on the efficacy of combined treatment of pegylated interferon- α (PegIFN) and ribavirin (RBV) in patients with chronic hepatitis C. **Methods** The clinical data of 148 HCV-infected patients who were treated with PegIFN and RBV in Central Hospital of Baoji from January 2008 to December 2011 were analyzed, retrospectively. The sustained virological response 24 weeks (SVR24), early virological (EVR), treatment virological response (ETR), 12 weeks of sustained virological response (SVR12), recurrence, invalid response, virological breakthrough were used to evaluate the curative effect, and influencing factors of curative effect were analyzed by Logistic regression. **Results** Among the 148 patients with HCV infection, 12 (8.1%) cases were lost. Among the 136 patients with EVR, 128 (94.1%) patients experienced EVR, 118 cases (86.8%) experienced ETR, 114 (83.8%) patients experienced SVR12, 112 (82.4%) patients experienced SVR24, 8 (5.9%) patients were invalid response, 6 (4.4%) patients experienced recurrence and 4 (2.9%) patients had virological breakthrough. HCV RNA, HCV genotype and UA were all influencing factors on the efficacy of SVR24 in HCV infected patients (all $P < 0.05$). **Conclusions** Treatment of PegIFN combined with RBV has significant effect on HCV infection. HCV genotype 2/3, lower HCV RNA level and uric acid were associated with HCV SVR.

【Key words】 Hepatitis C; Pegylated interferon; Ribavirin; Uric acid

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染是全球慢性肝病的常见病因之一。全球约1.3亿~1.5亿人感染HCV, 我国是HCV感染高发区之一^[1-2]。一旦感染HCV, 大部分患者会进展为慢性肝炎、肝硬化, 甚至肝癌, 严重影响人类生命健康。目前慢性丙型病毒性肝炎常用聚乙二醇化干扰素- α (Pegylated interferon, PegIFN) 联合利巴韦林 (ribavirin, RBV) 治疗, 通过此方案治疗约65%患者能达到持续病毒应答 (sustained virologic response, SVR)^[3]。临床研究发现患者PegIFN联合RBV治疗后是否获得SVR与患者感染HCV基因型、HCV RNA定量、转氨酶水平和宿主遗传等多种因素有关^[4-7]。筛选预测PegIFN联合RBV疗效的因素对减少不必要的治疗和降低成本意义重大。研究发现合并代谢综合征的HCV感染者治疗时SVR发生率较低^[8]。代谢综合征相关因素 (尿酸、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白等) 能否影响HCV感染者治疗SVR尚未明确。本研究探讨影响HCV感染者治疗后SVR的因素, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选取2008年1月至2011年12月于宝鸡市中心医院接受PegIFN加RBV联合治疗HCV感染者148例。男性82例, 女性66例; 年龄41~65岁, 平均年龄 (53.3 \pm 10.6) 岁, 本研究经医院伦理委员会审核批准。

1. 纳入标准: ①符合中华医学会肝病学分会及传染病与寄生虫病学会于2015年修订的丙型肝炎防治指南的诊断标准^[9]; ②代谢综合征诊断参考2004年中华医学会糖尿病学分会标准^[10]; ③均接受PegIFN和RBV联合治疗; ④年龄 > 18岁。

2. 排除标准: ①HCV感染以外的肝细胞损伤 (如血清乙型肝炎表面抗原阳性、慢性酒精中毒、中毒性肝炎或自身免疫性肝炎等) 患者; ②失代偿性肝硬化及器官移植后患者; ③严重的心脏或肺并发症; ④免疫介导性疾病; ⑤恶性肿瘤; ⑥精神疾病; ⑦合并其他病毒感染者; ⑧妊娠期、哺乳期妇女。

二、研究方法

1. 信息收集: 回顾性分析148例患者临床

资料, 包括年龄、性别、BMI、病史、HCV基因分型、HCV RNA载量、血红蛋白、白蛋白 (albumin, ALB)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate transaminase, AST)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酰转肽酶 (glutamyl transpeptidase, GGT)、血小板计数 (platelet count, PLT)、尿酸 (uric acid, UA)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 以及并发症等。

2. 治疗及随访: 入组患者均接受肌肉注射PegIFN- α -2a (派罗欣, 罗氏公司) 180 μ g、1次/周和利巴韦林 (温州第四制药厂) (体重 \leq 75 kg者口服800 mg/d, 体重 > 75 kg者口服1 200 mg/d), HCV基因1型患者疗程为48周, HCV基因2/3型患者疗程24周。治疗12周、24周及疗程结束后随访期间检测HCV RNA载量, 评估疗效及不良反应。随访平均 (69.8 \pm 6.4) 个月, 2016年12月随访结束。

3. 疗效评价指标: 主要疗效评价指标: 持续性病毒应答24 (sustained virologic response 24, SVR24) 即治疗结束并停药24周时血清HCV RNA低于检测下限 (< 15 IU/ml)。次要疗效指标: 早期病毒学应答 (early virologic response, EVR), 指治疗12周时血清HCV RNA水平较治疗前至少下降2 \log_{10} 水平; 治疗结束病毒应答 (end-of-treatment response, ETR), 指治疗结束时血清HCV RNA低于检测下限; 持续性病毒应答12 (sustained virologic response 12, SVR12), 即治疗结束并停药12周时血清HCV RNA低于检测下限; 复发, 即治疗结束HCV RNA水平低于检测下限, 但停药随访12周或24周时血清HCV RNA水平高于检测下限; 无效应答, 指在治疗12周过程中血清HCV RNA水平下降从未达到 \geq 2 \log_{10} IU/ml; 病毒学突破, 指治疗时血清HCV RNA相对最低值升高 > 1 \log_{10} ^[11-13]。

4. 不良反应: 通过临床不良反应 (发热、瘙痒、头昏、失眠、疲倦、抑郁等) 和实验室检查结果 (中性粒细胞计数、血红蛋白、PLT等) 评估PegIFN联合RBV治疗的安全性。

三、统计学处理

采用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。患

者年龄、BMI、HCV RNA定量等实验室数据均为计量资料,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用Student's T test;患者性别、HCV基因型、并发症类型、HCV感染者病毒学应答均为计数资料,组间比较采用 χ^2 检验。Logistic回归分析与SVR有关的影响因素。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、入组患者的基本情况

入组148例HCV感染者一般临床资料见表1。随访过程中,失访12例(8.1%、12/148),其中HCV基因型1患者失访6例(9.1%、6/66),HCV

表1 148例HCV感染者的一般临床特征

一般资料	数值
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	53.3 \pm 10.6
性别(男/女, 例)	82/66
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.2 \pm 2.6
HCV RNA($\bar{x} \pm s$, log ₁₀ IU/ml)	5.7 \pm 1.1
HCV基因型1:2:3(例)	66:76:6
ALT($\bar{x} \pm s$, U/L)	62.1 \pm 32.5
AST($\bar{x} \pm s$, U/L)	63.7 \pm 38.4
ALB($\bar{x} \pm s$, g/L)	39.3 \pm 4.2
GGT($\bar{x} \pm s$, U/L)	44.45 \pm 24.1
PLT($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	145.4 \pm 68.7
UA($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	5.2 \pm 1.2
TC($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	98.2 \pm 28.5
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	42.9 \pm 12.9
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	93.2 \pm 27.6
随访时间($\bar{x} \pm s$, 月)	69.8 \pm 6.4
并发症[例(%)]	
糖尿病	2(1.3)
高血压	8(5.4)
代谢综合征	10(6.8)

基因型2/3患者失访6例(7.3%、6/82)。

二、入组患者的病毒学应答

136例HCV感染者中128例出现EVR(94.1%),8例无效应答(5.9%)患者均为基因1型HCV感染。118例(86.8%)HCV感染者出现ETR,4例(2.9%)患者出现病毒学突破,包括2例HCV基因1型和2例HCV基因型2/3感染者;6例患者因出现严重不良反应(疲劳者1例、抑郁症者5例)而停药,且均为HCV基因型2/3感染者。治疗12周后114例(83.8%)出现SVR;另4例(2.9%)复发患者均为HCV基因1型感染者。治疗24周后112例(82.4%)出现SVR,另2例复发患者(1.5%)均为HCV基因1型感染者。复发患者6例,复发率为4.4%。HCV-1基因型和HCV-2/3基因型患者EVR、SVR12、SVR14、无效应答率以及复发率差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表2。

三、HCV感染者疗效的预测因素

HCV RNA、HCV基因型、ALT和UA是影响HCV感染者疗效SVR的主要因素($P < 0.05$),见表3。Logistic回归分析发现HCV RNA、HCV基因型和UA均为影响HCV感染者疗效SVR24的因素($P < 0.05$),见表4。并发代谢综合征的HCV感染者10例,其血清尿酸[(6.5 \pm 0.3) mg/dl]显著高于无代谢综合征的HCV感染者(126例)[(5.2 \pm 0.8) mg/dl],差异有统计学意义($t = 1.073$ 、 $P = 0.042$)。

四、不良反应

随访期间HCV感染者不良反应如表5。最常见的不良反应是中性粒细胞减少,发生率为56.7%,其次是贫血(31.6%)和血小板减少症(14.0%)。另有部分患者出现瘙痒、肌痛、头痛、脱发、疲劳和抑郁症。多数患者不良反应症状轻微,且恢复较快;治疗期间无患者发生危及生命

表2 各基因型HCV感染者的病毒学应答[例(%)]

组别	例数	EVR	ETR	SVR12	SVR24	无效应答	复发	病毒学突破
HCV基因型1组	60	52(86.7)	50(83.3)	46(76.7)	44(73.3)	8(13.3)	6(10.0)	2(3.3)
HCV基因型2/3组	76	76(100.0)	68(89.5)	68(89.5)	68(89.5)	0(0.0)	0(0.0)	2(2.6)
合计	136	128(94.1)	118(86.8)	114(83.8)	112(82.4)	8(5.9)	6(4.4)	4(2.9)
χ^2 值		10.767	1.101	4.056	6.010	10.767	7.951	0.058
P值		0.001	0.294	0.044	0.014	0.001	0.006	1.000

表3 HCV 感染者疗效的相关因素

相关因素	SVR患者 (112例)	非SVR患者 (24例)	统计值	P值
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	55.3 \pm 12.6	52.3 \pm 11.6	$t = 0.432$	0.123
性别 (男/女, 例)	54/58	13/11	$\chi^2 = 0.280$	0.597
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.0 \pm 2.9	23.7 \pm 3.6	$t = 0.143$	0.213
HCV RNA ($\pm s$, log ₁₀ IU/ml)	5.4 \pm 1.1	6.2 \pm 0.5	$t = 1.576$	0.022
HCV基因型 (1 : 2/3)	44/68	16/8	$\chi^2 = 6.010$	0.014
ALT ($\bar{x} \pm s$, U/L)	78.1 \pm 23.7	51.1 \pm 26.9	$t = 1.761$	0.025
AST ($\bar{x} \pm s$, U/L)	72.7 \pm 31.4	55.9 \pm 32.4	$t = 0.654$	0.332
ALB ($\bar{x} \pm s$, g/L)	41.2 \pm 5.2	37.5 \pm 3.5	$t = 0.112$	0.517
GGT ($\bar{x} \pm s$, U/L)	48.3 \pm 25.3	42.45 \pm 21.4	$t = 0.154$	0.219
PLT ($\bar{x} \pm s$, 10 ⁹ /L)	149.4 \pm 60.1	143.4 \pm 88.7	$t = 0.214$	0.176
UA ($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	5.1 \pm 0.6	5.8 \pm 0.9	$t = 1.543$	0.024
TC ($\bar{x} \pm s$, mg/dl)	88.2 \pm 30.5	105.2 \pm 47.5	$t = 1.009$	0.069
HDL-C ($\pm s$, mg/dl)	46.3 \pm 11.9	35.9 \pm 10.6	$t = 0.987$	0.067
LDL-C ($\pm s$, mg/dl)	97.5 \pm 21.6	83.2 \pm 22.2	$t = 0.897$	0.079

表4 Logistic 多因素分析影响 HCV 感染疗效 SVR24 的相关因素

临床参数	B值	OR值	95%CI	P值
HCV RNA (log ₁₀ IU/ml)	-0.365	0.311	0.102~0.895	0.032
HCV 基因型 (1 : 2/3)	-0.434	0.328	0.090~1.123	0.019
ALT (U/L)	-0.724	0.236	0.005~0.997	0.123
UA (mg/dl)	-0.658	0.588	0.312~1.476	0.041
截距	3.214	—	—	0.002

注: “—”: Logistic 多因素分析中截距无 OR 和 95%CI 值

表5 136 例 HCV 感染者的不良反应

不良反应	例 (%)
中性粒细胞减少 (个/ml)	77 (56.7)
< 1 000	22 (16.2)
750~1 000	41 (30.1)
< 500	14 (10.3)
贫血 (g/dl)	43 (31.6)
血红蛋白 < 10.0	35 (25.7)
血红蛋白 < 8.0	8 (5.9)
血小板 < 50 000个/ml	19 (14.0)
瘙痒	58 (42.6)
肌痛	43 (31.6)
头痛	40 (29.4)
发热	34 (25.0)
头昏	32 (23.5)
失眠	32 (23.5)
皮疹	30 (22.1)
疲倦	20 (14.7)
抑郁症	14 (10.3)

的不良事件。

讨 论

目前常用的慢性丙型肝炎治疗方案为PegIFN- α 联合利巴韦林治疗24周或48周, 疗程长短与患者感染HCV基因型及机体应答有关^[14]。尽管如此, 许多病例仍表现为不应答或部分应答, 且在治疗过程中常发生诸多不良反应, 严重影响患者用药依从性和疗程的完成, 从而降低疗效。因此, 研究影响疗效的病毒学、宿主及药物因素, 对于制订个性化治疗方案, 缩短患者治疗周期等尤为重要。

本研究评估了PegIFN- α 联合RBV治疗HCV感染的疗效和安全性, 发现HCV RNA载量、HCV基因型和UA是影响PegIFN- α 联合利巴韦林治疗HCV感染疗效的主要因素。研究表明HCV基因型是影响慢性丙型肝炎疗效的主要因素之一^[15]。中国

HCV感染以HCV-1型为主, HCV-1型感染的慢性丙型肝炎患者PegIFN- α 联合利巴韦林治疗后SVR低于非HCV-1基因型患者。陈志敏等研究表明PegIFN- α 联合利巴韦林治疗HCV-1基因型和非HCV-1基因型患者SVR分别为60.0%和93.3%^[16], 与本研究结果一致。本研究中HCV-1基因型感染者治疗后SVR也显著低于HCV-2/3基因型感染者。目前不同基因型对PegIFN- α 联合利巴韦林治疗应答差别的机制尚未明确, 可能与HCV-1感染的肝细胞清除率低于其他基因型有关。研究表明血清HCV RNA载量高与肝脏功能损害程度无相关性, 但与PegIFN- α 联合RBV治疗应答密切相关^[17], 与本研究结果一致。另外, 研究表明性别、年龄、HCV基因型、HCV载量、IL-28B多态性和ALT等均是评估疗效的预测因子^[18-21]。但本研究未发现性别、年龄、IL-28B多态性、ALT与PegIFN和RBV联合治疗疗效有关, 可能是因入选对象均为同一地区的汉族人群患者, 宿主遗传因素较为一致, 因此可排除这些宿主遗传因素对本研究的影响。

研究发现慢性丙型肝炎患者合并代谢综合征如胰岛素抵抗, 也会影响疗效。本研究也探讨了与代谢综合征相关的因素对PegIFN- α 和RBV的联合治疗疗效的影响, 发现代谢综合征指标之一血尿酸也能影响PegIFN- α 联合利巴韦林治疗HCV感染的疗效。早期报道血尿酸是HCV感染者IFN治疗反应的预测因素^[22], 与本研究结果一致。鉴于代谢综合征与HCV感染预后有关, 血清尿酸水平可能也是影响治疗HCV感染疗效的重要因素。

研究发现PegIFN联合RBV治疗可出现多种不良反应^[22], 与本研究结果一致。但这些不良反应均为暂时性, 经对症治疗后均可恢复, 治疗期间无患者发生危及生命的不良事件, 提示该疗法的安全性较好。

本研究为单中心研究, 尚需更加系统研究代谢综合征和抗HCV治疗应答影响因素的相关性。代谢综合征与HCV感染间的关联研究可能为新的疗法奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 陈晓云, 郑艳红, 金怡, 等. 聚乙二醇干扰素 α 联合利巴韦林治疗难治性慢性丙型肝炎过程中血常规变化与疗效的相关性[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(7): 1319-1322.
- [2] Yan Z, Wang Y. Viral and host factors associated with outcomes of hepatitis C virus infection (Review)[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 2909-2924.
- [3] Jadoon SA, Jadoon HA, Nazar HS. Treatment of chronic hepatitis-C with standard interferon and ribavirin[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2014, 26(2): 212-215.
- [4] 常中飞, 郑玉琴, 刘凤永, 等. 综合治疗策略对我国丙型肝炎相关性肝癌患者的预后因素分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2016, 10(2): 217-223.
- [5] Yau AH, Yoshida EM. Hepatitis C drugs: the end of the pegylated interferon era and the emergence of all-oral interferon-free antiviral regimens: a concise review[J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2014, 28(8): 445-451.
- [6] Obołończyk Ł, Siekierska-Hellmann M, Wiśniewski P, et al. Epidemiology, risk factors and prognosis of Interferon alpha induced thyroid disorders. A prospective clinical study[J]. Postepy Hig Med Dosw(Online), 2017, 71(1): 842-849.
- [7] Dolatimehr F, Karimi-Sari H, Rezaee-Zavareh MS, et al. Combination of sofosbuvir, pegylated-interferon and ribavirin for treatment of hepatitis C virus genotype 1 infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Daru, 2017, 25(1): 11.
- [8] Pandya P, Pant C, Taylor R, et al. Impact of sustained virological response to chronic hepatitis C antiviral therapy on new onset diabetes mellitus type 2 after controlling for metabolic syndrome[J]. J Investig Med, 2017, 65(4): 765-771.
- [9] 中华医学会肝病学会, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(5): 590-607.
- [10] 中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议[J]. 中国糖尿病杂志, 2004, 12(3): 156-161.
- [11] Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, et al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. Hepatology, 2011, 54(4): 1433-1444.
- [12] Polish Group of Experts for HCV, Halota W, Flisiak R, et al. Recommendations for the treatment of hepatitis C in 2017[J]. Clin Exp Hepatol, 2017, 3(2): 47-55.
- [13] Artenie AA, Zang G, Daniel M, et al. Short-term injection drug use changes following hepatitis C virus (HCV) assessment and treatment among persons who inject drugs with acute HCV infection[J]. Int J Drug Policy, 2017, 47: 239-243.
- [14] 张馨, 汪茂荣, 杨志国, 等. 聚乙二醇化干扰素 α -2a、聚乙二醇化干扰素 α -2b和干扰素 α -2b联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的疗效[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017, 11(2): 134-140.
- [15] Li Y, Wang J, Wang J, et al. SVR Rates of HCV-infected population under PEG-IFN- α /R treatment in Northwest China[J]. Virol J, 2017, 14(1): 62.
- [16] 陈志敏, 陈铿, 应若素, 等. 聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的疗效及影响因素分析[J/CD]. 中华实验和临床感染

病杂志(电子版),2014,8(1):22-25.

- [17] Johnson K, Green PK, Ioannou GN. Implications of HCV RNA level at week 4 of direct antiviral treatments for hepatitis C[J]. J Viral Hepat,2017,24(11):966-975.
- [18] Iqbal S, Khalil-Ur-Rahman, Sheikh MA, et al. Response of different HCV genotypes to interferon therapy in different age groups of chronic hepatitis-C patients[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad,2014,26(3):310-315.
- [19] Yee BE, Nguyen NH, Zhang B, et al. Sustained virological response and its treatment predictors in hepatitis C virus genotype 4 compared to genotypes 1, 2, and 3: a meta-analysis[J]. BMJ Open Gastroenterol, 2015,2(1):e000049.
- [20] Chen Yi, Mei SLG, Thompson AJ, et al. Sustained virological response halts fibrosis progression: A long-term follow-up study of people with chronic hepatitis C infection[J]. PLoS One,2017,12(10):e0185609.
- [21] Radley A, Tait J, Dillon JF. DOT-C: A cluster randomised feasibility trial evaluating directly observed anti-HCV therapy in a population receiving opioid substitute therapy from community pharmacy[J]. Int J Drug Policy,2017,47:126-136.
- [22] Li WC, Lee YY, Chen IC, et al. Association between the hepatitis B and C viruses and metabolic diseases in patients stratified by age[J]. Liver Int,2013,33(8):1194-1202.

(收稿日期: 2017-10-21)

(本文编辑: 孙荣华)

杨炜炜. 聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎疗效的影响因素[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2018,12(3):301-306.

