

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.22.022

维持性血液透析患者微炎症状态的研究进展*

高祖玲¹, 杨海俊¹综述, 熊维建^{2△} 审校

(1. 重庆市永川区中医院肾病科 402160; 2. 重庆市中医院肾病科 400021)

[摘要] 维持性血液透析(MHD)患者中普遍存在微炎症状态,微炎症状态是一种可导致慢性肾衰竭发病率和死亡率升高的主要原因,其与营养不良及血管粥样硬化有一定关系,对 MHD 患者的并发症和预后有严重的影响。但目前微炎症状态的病因尚不完全清楚,诊断标准尚未统一,临床意义仍需进一步探究,治疗效果尚不理想。现就微炎症状态的病因、发生机制、诊断、临床意义和治疗作一综述。

[关键词] 维持性血液透析;微炎症状态;研究进展

[中图分类号] R459.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)22-2963-03

随着透析方案的持续优化和医师的临床经验的丰富,维持性血液透析(maintainance hemodialysis, MHD)已经成为晚期肾脏疾病的主要治疗方法^[1]。但是,经过 MHD 治疗的患者预后仍不理想,5 年生存率为 33.0%~54.3%^[2]。以往研究主要集中在探讨透析液及透析用水的纯净度以及透析膜的生物相容性与 MHD 患者的高并发症发生率与死亡率的相关性。然而,ALLON 等^[3]却证实即便在增加透析剂量并使用生物相容性较好的透析器等情况下,MHD 患者并发症的发生情况亦无明显改善。早在 1999 年,就有国外学者提出炎症是继营养不良与动脉粥样硬化后又一导致慢性肾衰竭患者发病率和死亡率增加的主要原因,且三者之间存在协同作用。但目前微炎症状态的病因尚不完全清楚,诊断标准尚未统一,临床意义仍需进一步探究,治疗效果尚不理想,现作一综述。

1 微炎症状态发生的病因及发生机制

1.1 慢性肾衰竭是最基本原因 慢性肾衰竭时患者的免疫系统已发生改变,呈现出促炎症状态。随着肾小球清除率的不断下降,代谢所产生的内毒素在机体不断积聚,导致 AGEs 和晚期脂质氧化产物(AOPPs)水平不断升高,并激活核因子从而刺激炎症因子的分泌,而血清这些炎症因子水平升高又会刺激肝脏分泌大量 APP 如 C 反应蛋白(CRP)、血清凝血物质等,从而再次加重肾脏的清除负担,最终导致机体微炎症状态的持续存在^[4]。国外的一项研究共纳入 102 例慢性肾功能不全患者,并分为透析治疗组与未透析治疗组,在未透析治疗组中血清 CRP 和白细胞介素(IL)-6 水平亦明显增高,再次证明慢性肾衰竭本身即可引起炎症反应^[5]。此外,最近国外一项研究通过对 72 例慢性肾衰竭 4~5 期的患者进行为期 1 年的随访,发现有低钠血症者(<138 mmol/L) CRP 水平较血钠正常者显著升高,表明低钠血症对于 CDK 患者微炎症状态的产生也有一定影响,其具体机制有待进

一步研究^[6]。

1.2 血液透析对微炎症状态的作用 (1)MHD 患者的血液与透析液需要长期接触,但是临床上常用的透析液在保存过程中易被细菌污染。在透析过程由于存在反滤过机制,细菌的代谢物可进入血液,并在血液中释放某些致热源从而促使 IL-1 α 、IL-1 β 等炎症因子的分泌增加。(2)长期使用生物相容性较差的滤过膜后,MHD 患者血液中的单核细胞和补体分泌炎症介质可被激活,导致炎症反应的发生。在换用生物相容性较好的滤过膜后,患者的炎症反应有所改善^[7]。(3)研究表明使用高通量透析的 MHD 患者血清 hs-CRP 等炎症因子水平与使用低通量相比显著降低,提示可能与高通量透析状态利于炎症因子排出有关^[8]。但近年来亦有研究提出使用高通量聚酰胺膜并不能降低患者血清炎症因子水平^[9]。

1.3 遗传因素的作用 研究证实,与欧美血统相比,亚洲血统的 MHD 患者具有较低的并发症发生率,生存率亦有一定提高^[10]。此外,相关研究也表明在白种人中,CRP 的 GT(16)等位基因和 GT(21)等位基因的频率比非洲裔美国人高出 2 倍,提示遗传多态性对于 CRP 的表达有一定影响。

2 微炎症状态的诊断

虽然微炎症状态普遍存在于 MHD 患者体内,但是目前国内外尚无统一的诊断标准,主要通过一些炎症指标的升高来确定。研究表明与透析前相比,透析治疗 12 个月后血清炎症指标中仅 CRP 明显升高^[11]。因此,关于透析患者炎症状态的鉴别临床上通常使用 CRP 来代替(常为 3~10 mg/L)。但是,以往的检测技术仅对显性炎症状态有比较理想的检测效果,但是在 MHD 患者中的非显性炎症状态检测的敏感性往往不尽如人意。作为检测 CRP 的新方法,hs-CRP 能够检出低水平的 CRP(0.05~1 mg/L),如果血清 hs-CRP 持续性地轻微增高(<10~15 mg/L)则提示微炎症状态的存在^[12]。

* 基金项目:重庆市永川区科委自然科学基金资助项目(Ycstc,2015nc5017)。 作者简介:高祖玲(1969-),副主任医师,本科,主要从事肾脏疾病的诊治及血液净化技术的研究。 △ 通信作者,E-mail:xwj950806@126.com。

3 微炎症状态对 MHD 患者的临床影响

微炎症状态本身虽然没有明显的临床影响,但是它与 MHD 的多种常见并发症的产生均存在一定相关性。作为 MHD 患者并发症发生的强烈预测因子,微炎症状态的存在需引起广大临床工作者的高度重视。

3.1 微炎症状态与心血管并发症 研究表明 MHD 患者的心血管并发症发病率明显高于同龄的其他人群,其病死率大约是健康人群的 30 倍。国外一项前瞻性研究通过对 112 例血液透析患者进行为期 2 年随访发现,血清 CRP 水平与心血管不良事件的发生独立相关,CRP 每升高 1 mg/L,主要心脏不良事件发生风险增加 1.94 倍^[13]。SHI 等^[12]研究发现伴有微炎症状态的 MHD 患者左心室功能降低得更为明显,在检测的炎症指标中仅 hs-CRP 与患者心功能降低显著相关($P < 0.05$),再次证明微炎症在心血管并发症中发挥着重要作用。

3.2 微炎症状态与营养不良 营养不良是 MHD 患者的常见并发症。SAYARLIOGLU 等^[14]曾提出了两种类型的营养不良:I 型营养不良主要由食欲降低或者透析不充分导致营养物质摄入不足引起。此型患者通过营养支持、增加透析剂量后症状可得到改善。而营养不良 II 型主要是由炎症反应所导致,炎症细胞因子 IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等可以通过提高患者基础代谢水平导致蛋白质分解增多;此外还可以通过抑制白蛋白的合成导致低白蛋白血症的出现^[15],而 MHD 患者的营养不良多数属于 II 型^[16]。关于营养不良的评价指标,常用的有清蛋白、转铁蛋白、视黄醇结合蛋白。此外,高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box protein-1, HMGB-1)是近年来发现的一种新的炎症细胞因子,国内一项研究证实 HMGB-1 亦可以作为评估透析患者营养状况的一个新的指标^[17]。

3.3 微炎症状态与促红细胞生成素抵抗 贫血是 MHD 患者又一较为常见的并发症,且对于患者的生存时间有一定影响。在使用促红细胞生成素(EPO)纠正贫血时常因机体的抵抗反应导致治疗效果不佳,其潜在机制可能与炎症因子抑制红细胞生成并增加机体铁的代谢相关^[18]。

4 微炎症状态的治疗

微炎症状态与 MHD 患者的预后的相关性十分密切,但是尚无针对 MHD 患者中微炎症状态的有效治疗方案。常用的治疗方案包括以下几种。

4.1 改善透析膜生物相容性 研究表明 MHD 患者在透析时候所使用的透析膜的生物相容性与患者的血清炎症因子水平呈反比,即使在换用超纯透析液后亦有显著差别,表明透析膜的生物相容性与患者透析后的炎症反应相关性较强^[19]。此外,还有学者提出在透析时使用经过维生素 E 修饰的透析膜,能够对透析所产生的不良反应如血管内皮细胞的功能异常以及血浆 LRP 的氧化程度起到一定的降低作用^[20]。

4.2 提高透析用水和透析液的无菌水平 透析机在使用一定时间后,管路的内壁上易形成生物膜,此外管路中还存在一些死腔,这些都成为了细菌生长的潜在隐患。研究表明使用超纯透析液及反渗透水处理系统等提高透析用水及透析液无菌水平的方法后,可显著降低透析患者血清中 hs-CRP 等炎症因子的水平^[21]。

4.3 他汀类药物的抗炎作用 作为 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,他汀类药物可以有效降低胆固醇和低密度脂蛋白,阻止动脉粥样硬化的发展。但是,亦有学者证实他汀类药物除调节脂质代谢外,还具有抗炎和免疫调节作用,它可以减弱粥样硬化斑块中炎症细胞的趋化作用,抑制 sICAM 及 MMP 的表达,减少 IL-6 mRNA 的表达和蛋白质的合成,降低血清 IL-6 的水平^[22]。TIAN 等^[23]共纳入 MHD 患者 80 例,其中 42 例给予阿托伐他汀(20 mg/d)治疗,38 例给予瑞舒伐他汀(10 mg/d)治疗。12 周后,两组患者血清 LDL-C、hs-CRP 和 IL-6 水平均明显降低,但与阿托伐他汀组相比,瑞舒伐他汀组患者的微炎症状态和营养状况改善更为明显,提示在使用他汀类药物治疗 MHD 患者时瑞舒伐他汀可能会有着更好的效果。

4.4 ACEI 与 ARB 的抗炎作用 作为临床上较为常见的降血压药物,血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)和血管紧张素 II 受体拮抗剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)能够对于血压管理起到很好的作用并明显降低心脑血管并发症的发生情况。KOVACS 等^[24]的研究结果证明 MHD 患者在使用 ACEI 后,血清 CRP 及 TNF- α 水平均有所下降,提示 ACEI 除降压作用外,还能改善 MHD 患者的微炎症状态。此外,亦有研究提示将 ARB 用于血透患者中可以改善体内的微炎症状态^[25]。

4.5 抗氧化应激 研究表明维生素 E 对于蛋白激酶的活化有一定抑制作用,并能显著降低血小板的黏附与聚集作用,并能够有效地抑制巨噬细胞释放炎症介质,从而起到抑制动脉粥样硬化及炎症进展的作用^[26]。国内学者提出通过给予透析患者口服维生素 E 400 mg/d,治疗时间为 6 周,与治疗前相比患者血清 CRP 等炎症因子水平在治疗 6 周后明显下降,这在一定程度上提示对于透析患者,加用维生素 E 治疗后能够对患者的炎症反应状态起到一定改善作用,但是仍需进一步开展大样本临床试验来证实远期的治疗效果^[27]。

4.6 营养干预 越来越多的证据表明膳食纤维对人体具有保健作用。膳食纤维和蛋白质之间的关系被西方国家称之为营养调和中的阴阳。虽然传统观念认为肾衰竭患者需要限制蛋白质的摄入,但是膳食纤维可以弥补蛋白质对机体的有害影响。因此,对于肾衰竭患者的营养干预,最新观点认为与其冒着营养不良的风险限制其蛋白质摄入量,不如从增加膳食纤维

摄入量方面来进行干预^[28]。

4.7 其他治疗 除上述治疗方式外,紫外线照射,抗抑郁药物,左旋肉碱以及以“益气固肾液”为代表的中药治疗均可以不同程度地改善 MHD 患者的微炎症状态^[29]。

综上所述,随着国民经济水平的不断提高和透析技术的逐渐成熟,透析在肾衰竭患者中得到了广泛应用。如何降低 MHD 患者不良反应的发生情况,改善患者的生活质量是每一个相关工作者亟待解决的重要难题。越来越多的研究证实 MHD 患者中普遍存在微炎症状态,它虽然没有显著的临床影响,但是却和透析后的许多并发症密不可分。目前,关于微炎症状态的治疗尚缺乏行之有效的方案,通过对微炎症状态进行深入研究从而做到早发现、早确诊、早干预,对于降低 MHD 患者的病死率,改善患者的生活质量具有极为重要的临床意义。

参考文献

- [1] KO G J, LEE Y M, LEE E A, et al. The association of Klotho gene polymorphism with the mortality of patients on maintenance dialysis [J]. *Clin Nephrol*, 2013, 80(4): 263-269.
- [2] CHIU Y W, JIWAKANON S, LUKOWSKY L, et al. An update on the comparisons of mortality outcomes of hemodialysis and peritoneal dialysis patients [J]. *Semin Nephrol*, 2011, 31(2): 152-158.
- [3] ALLON M, DEPER T A, RADEVA M, et al. Impact of dialysis dose and membrane on infection-related hospitalization and death: results of the HEMO study [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(7): 1863-1870.
- [4] 沈文清, 邢艳芳, 黄丽, 等. 微炎症及氧化应激对慢性肾脏病患者肾功能的影响 [J]. *中国临床医学*, 2012, 19(5): 500-501.
- [5] PANICHI V, MIGLIORI M, PIETRO S D, et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases [J]. *Ren Fail*, 2001, 23(2): 551-562.
- [6] ORTEGA O, COBO G, CAMACHO R, et al. Lower plasma sodium is associated with a microinflammatory state among patients with advanced chronic kidney disease [J]. *Nephron*, 2014, 128(3/4): 312-318.
- [7] 谢明. 不同透析膜对维持性血液透析患者微炎症状态的影响 [J]. *内科急危重症杂志*, 2015, 21(6): 450-451.
- [8] 徐丰博, 孙懿, 刘惠兰. 高通量血液透析对维持性血液透析患者微炎症状态的影响 [J]. *中国血液净化*, 2011, 10(3): 133-135.
- [9] LI K T, CHENG Y L, CHI B L, et al. Effect of membrane permeability on inflammation and arterial stiffness: a randomized trial [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(4): 652-658.
- [10] CHOU H T, SHI Y R, HSU Y, et al. Lack of association of genetic polymorphisms in the interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4 and interleukin-10 genes with mitral valve prolapse in Taiwan Chinese [J]. *J Heart Valve Dis*, 2003, 12(1): 38.
- [11] TSIRPANLIS G, CHATZIPANAGIOTOU S, NICO-LAOU C. Microinflammation versus inflammation in chronic renal failure patients [J]. *Kidney Int*, 2004, 66(5): 2093-2094.
- [12] SHI L, JIE S, ZHANG X, et al. Correlation between the microinflammatory state and left ventricular structural and functional changes in maintenance haemodialysis patients [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 6(2): 532.
- [13] HASE H, TSUNODA T, TANAKA Y, et al. Risk factors for de novo acute cardiac events in patients initiating hemodialysis with no previous cardiac symptom [J]. *Kidney Int*, 2006, 70(6): 1142-1148.
- [14] SAYARLIOGLU H, ERKOC R, DEMIR C, et al. Nutritional status and immune functions in maintenance hemodialysis patients [J]. *Mediators Inflamm*, 2006, 2006(1): 20264.
- [15] GUTTRIDGE D C, MAYO M W, MADRID L V, et al. NF- κ B-Induced Loss of MyoD Messenger RNA: Possible Role in Muscle Decay and Cachexia [J]. *Science*, 2000, 289(5488): 2363-2366.
- [16] 魏丹丹, 姚丽, 焦亚彬, 等. 维持性血液透析患者微炎症状态的临床研究 [J]. *中国血液净化*, 2011, 10(3): 136-139.
- [17] ZHU N, YUAN W, ZHOU Y, et al. High mobility group box protein-1 correlates with microinflammatory state and nutritional status in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients [J]. *J Artif Organs*, 2011, 14(2): 125-132.
- [18] RAFIEAN-KOPAIE M, NASRI H. Impact of inflammation on anemia of hemodialysis patients who were under treatment of recombinant human erythropoietin [J]. *J Renal Inj Prev*, 2013, 2(3): 93-95.
- [19] 田津生, 张怡静. 不同透析膜对血透患者血清 C 反应蛋白、白细胞介素-6、白细胞介素-8 和白蛋白的影响 [J]. *临床内科杂志*, 2012, 29(1): 40-42.
- [20] RENÒ F, LOMBARDI F, CANNAS M. Polystyrene surface coated with vitamin E modulates human granulocyte adhesion and MMP-9 release [J]. *Biomol Eng*, 2004, 21(2): 73-80.
- [21] GUO L L, PAN Y, ZHU X J, et al. Conventional, but not high-purity, dialysate-induced monocyte apoptosis is mediated by activation of PKC-delta and inflammatory factors release [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(5): 1516-1522.
- [22] BALLANTYNE C M, PITT B, LOSCALZO J, et al. Alteration of relation of atherogenic lipoprotein cholesterol to apolipoprotein B by intensive statin therapy in patients with acute coronary syndrome [J]. *Am J Cardiol*, 2013, 111(4): 506-509.
- [23] TIAN J, HOU X, HU L, et al. Efficacy comparison of atorvastatin versus rosuvastatin on blood lipid and microinflammatory state in maintenance hemodialysis patients [J]. *Renal Fail*, 2017, 39(1): 153.
- [24] KOVACS I, TOTTH J, TARJAN J, et al. Correlation of flow mediated dilation with inflammatory markers in patients with impaired cardiac function. Beneficial effects of inhibition of ACE [J]. *Eur J Heart Fail*, 2006, 8(5): 451-459.
- [25] MARSHALL T G, LEE R E, MARSHALL F E. Common angiotensin receptor blockers may directly modulate the immune system via VDR, PPAR and CCR2b [J]. *Theor Biol Med Model*, 2006, 3(1): 1.

心脏结构及功能的全面评价^[12]。检查者可以通过调节各种参数如焦点、频率、增益、图像放大等获得最好的图像以及调节时间分辨率、谐波成像及多普勒相关参数(血流速度、壁滤波、帧频)。胎儿超声心动图检查使用 M 型或二维图像能够获得心脏生物学测量数据,使用多普勒检查可以评价结构的血流或心律异常,M 型超声心动图有助于评价心室收缩情况,分辨心律失常^[13]。

本研究结果显示研究 2 组的 MVA、TVA、AVA、PVA 均大于研究 1 组,MVA、TVA、PVA 大于对照组,可见血糖水平较高的 GDM 胎儿的各瓣环内径扩大,且胎儿心脏构型变化程度与母体血糖水平有关。研究 2 组的 RVDs 和 RVDd 均大于研究 1 组,RVDd、LVWT、RVWT、IVSs 及 IVSd 均大于对照组,提示 GDM 胎儿的心脏结构有改变。研究 2 组的 LVFS、RVFS、E/AMV、E/ATV、PVAO、PVPA、LCO、RCO、LVEF 以及研究 1 组的 LVFS、E/AMV、E/ATV、LCO 及 RCO 与对照组相比差异均有统计学意义,研究 2 组的 LVFS、PVAO、PVPA、LCO、RCO 和 LVEF 均大于研究 1 组,提示母体血糖水平越高,胎儿心脏功能受损程度越高,且血糖控制理想的 GDM 胎儿在心脏结构未发生明显改变的情况下,心脏功能已经发生明显变化。Tei 指数是评价心脏收缩及舒张能力的综合性指标,可以检查出早期的心室功能异常。本研究中,研究 2 组的 Ra1-Rb1、Ra2-Rb2、左心室 Tei 指数、右心室 Tei 指数以及研究 1 组的左心室 Tei 指数、右心室 Tei 指数与对照组相比差异均有统计学意义($P < 0.05$),研究 2 组的 Ra2-Rb2 和右心室 Tei 指数均大于研究 1 组,提示糖尿病造成了胎儿左、右心整体功能损伤,且胎儿心肌受损程度与母体血糖水平有关。

综上所述,妊娠期糖尿病孕妇胎儿的心脏结构、功能、工作与正常胎儿有显著差异,母体血糖水平越高,胎儿心脏功能改变越明显,超声心动图的多个参数能够反映胎儿心脏功能情况,可作为评价妊娠期糖尿病胎儿心脏功能的方法。

参考文献

[1] SVARE J A, HANSEN B B, LSTEDPEDERSEN L. Perinatal complications in women with gestational diabetes mellitus[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2015, 80(10): 899-904.

(上接第 2965 页)

[26] 冯利平,张玲,钟玲,等.口服维生素 E 对维持性血液透析患者血清几种炎症因子水平的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29(8): 733-735.

[27] 冯利平,张玲,钟玲,等.维生素 E 对维持性血液透析患者氧化应激及微炎症状态的影响[J]. *中国实用内科杂志*, 2007, 27(3): 215-217.

[28] EVENEPOEL P, MEIJERS B K. Dietary fiber and pro-

[2] SCHNEIDER S, HOEFT B, FREERKSEN N, et al. Neonatal complications and risk factors among women with gestational diabetes mellitus [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2011, 90(3): 231-237.

[3] LEE J, OUH Y T, AHN K H, et al. Preeclampsia: a risk factor for gestational diabetes mellitus in subsequent pregnancy[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0178150.

[4] MPONDO B C, ERNEST A, HE D. Gestational diabetes mellitus: challenges in diagnosis and management [J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2015, 14(1): 42-47.

[5] OLIVEIRA A P, CALDERON I M, COSTA R A, et al. Assessment of structural cardiac abnormalities and diastolic function in women with gestational diabetes mellitus [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2015, 12(3): 175-180.

[6] APPIAH D, SCHREINER P J, GUNDERSON E P, et al. Association of gestational diabetes mellitus with left ventricular structure and function: the CARDIA study[J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(3): 400-407.

[7] 张国军. 妊娠期糖尿病研究进展[J]. *河北医科大学学报*, 2015, 36(7): 862-866.

[8] SOBREVIA L, SALSOSO R, SAEZ T, et al. Insulin therapy and fetoplacental vascular function in gestational diabetes mellitus[J]. *Exp Physiol*, 2015, 100(3): 231-238.

[9] PALMIERI C R, SIMOES M, SILVA J C, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in fetuses of mothers with gestational diabetes before initiating treatment [J]. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2017, 39(1): 9-13.

[10] KAMANA K C, SHAKYA S, ZHANG H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review [J]. *Ann Nutr Meta*, 2015, 66(2): 14-20.

[11] 刘荣玮,任苓,叶军,等.产前超声心动图诊断中孕期胎儿肺动脉闭锁肺血供来源的应用[J]. *中国超声医学杂志*, 2017, 33(1): 90-92.

[12] GARG S, SHARMA P, SHARMA D, et al. Use of fetal echocardiography for characterization of fetal cardiac structure in women with normal pregnancies and gestational diabetes mellitus[J]. *J Ultrasound Med*, 2014, 33(8): 1365-1369.

[13] SONESSON S E, ELIASSON H, CONNER P, et al. Doppler echocardiographic isovolumetric time intervals indistinguishable of fetal blocked atrial bigeminy and 2:1 atrioventricular block[J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2014, 44(2): 171-175.

(收稿日期:2018-01-20 修回日期:2018-04-25)

tein; nutritional therapy in chronic kidney disease and beyond [J]. *Kidney Int*, 2012, 81(3): 227.

[29] 杨云英,付虹辉,赵也平,等.左卡尼汀联合阿托伐他汀对维持性血液透析患者微炎症的影响[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(25): 134-135.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-05-18)