

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.02.023

2 型糖尿病患者 NAFLD 与心房颤动的相关性 及其对脑卒中发病的影响*

何亮¹,高雪花²,陈阳美^{3△}

(1. 重庆市涪陵中心医院神经内科 408000;2. 四川省人民医院心脏超声及心功能科,成都 610072;
3. 重庆市医科大学附属第二医院神经内科 400010)

[摘要] 目的 通过研究非酒精性脂肪肝(NAFLD)与心房颤动的相关性,并对比是否合并 NAFLD 的 2 型糖尿病(T2DM)患者间并发心房颤动的比例和脑卒中事件的发生情况,从病因学的角度分析 NAFLD 引起的病理变化及对 T2DM 患者并发脑卒中的影响。**方法** 将临床诊断为 T2DM 的患者 350 例,依据是否并发心房颤动分为并发心房颤动组及未并发心房颤动组,对比两组患者的基本情况,同时应用 Logistic 回归分析研究 NAFLD 与心房颤动间的相关性。根据是否合并 NAFLD 分为合并 NAFLD 组及不合并 NAFLD 组,对比分析两组间心房颤动的发生率及脑卒中事件的发生情况。**结果** 并发心房颤动组 T2DM 患者中女性比例更高,年龄更大,高血压患者更多,左室高电压检出率更高,慢性阻塞性肺疾病、心力衰竭、瓣膜性心脏病、甲状腺功能亢进症发生率更高,谷氨酰转氨酶及糖化血红蛋白水平更高,合并 NAFLD 的患者比例更高,且 NAFLD 为 T2DM 患者并发心房颤动的独立预测因素。合并 NAFLD 组发生心房颤动的概率高于不合并 NAFLD 组(14.6% vs. 5.4%, $P=0.018$),发生脑卒中事件的概率也增加(25.3% vs. 8.6%, $P=0.001$)。**结论** 合并 NAFLD 的 T2DM 患者中发生心房颤动和脑卒中的概率增加,且 NAFLD 是 T2DM 患者并发心房颤动的独立预测因素。

[关键词] 糖尿病,2 型;非酒精性脂肪肝;心房颤动;卒中

[中图分类号] R743.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)02-0270-05

Correlation between NAFLD and atrial fibrillation in patients with type 2 diabetes mellitus and its effect on the onset of stroke

HE Liang¹,GAO Xuehua²,CHEN Yangmei^{3△}

(1. Department of Neurology, Fuling Central Hospital, Chongqing 408000, China;
2. Department of Cardiovascular Ultrasound and Non-invasive
Cardiology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China;
3. Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of
Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China;)

[Abstract] **Objective** To study the relationship between the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and atrial fibrillation, and compare with the incidence rate of atrial fibrillation and stroke between the clinical diagnosed 350 T2DM patients with or without NAFLD, in order to analyze the influence of the pathological mechanism of NAFLD on T2DM related stroke from aetiology angle. **Methods** According to whether the patients appeared atrial fibrillation, patients were divided into the atrial fibrillation group and the non-atrial fibrillation group, then the basic characters of the two groups were compared, and the Logistic regression analysis used to analyze the relationship between NAFLD and atrial fibrillation. The the incidence rate of atrial fibrillation and stroke between the two groups were compared. **Results** The proportion of women was higher in the atrial fibrillation group, the patients were older. GGT and HbA1c were higher in the atrial fibrillation group. And hypertension, electrocardiographic, chronic obstructive pulmonary disease, cardiac failure, valvular heart disease, hyperthyroidism and NAFLD appeared more frequently in the atrial fibrillation group. NAFLD was found to be the independent predictive factor of atrial fibrillation. The incidence rate of atrial fibrillation in the atrial fibrillation group was higher than that in the non-atrial fibrillation group (14.6% vs. 5.4%, $P=0.018$). While the incidence rate of stroke in the atrial fibrillation group was higher than that in the non-atrial

* 基金项目:2017 年四川省干部保健科研项目(川干研 2017-204)。 作者简介:何亮(1986—),主治医师,在读硕士,主要从事脑卒中研究。

△ 通信作者, E-mail: chenym1997@tom.com。

fibrillation group (25.3% vs. 8.6%, $P=0.001$). **Conclusion** Those T2DM patients with NAFLD are more probably to occur atrial fibrillation and stroke, NAFLD is found to be the independent predictive factor of atrial fibrillation.

[Key words] diabetes mellitus, type 2; non-alcoholic fatty liver disease; atrial fibrillation; stroke

心房颤动患者发生脑卒中的风险增加 5 倍,且心房颤动相关卒中发病程度更加危重^[1]。心房颤动的治疗以上游治疗,也就是病因治疗最为根本^[2]。新近研究表明,合并非酒精性脂肪肝(NAFLD)的 2 型糖尿病患者(T2DM)患者心房颤动的发生率明显增加,可能与 NAFLD 的病理变化引起的肝外病变有关^[3]。如果 NAFLD 是 T2DM 患者并发心房颤动的重要病因,那么临床加强对于 T2DM 患者 NAFLD 病变的治疗将可能减少 T2DM 患者心房颤动的发生率,最终从病因学的角度减少相关脑卒中的发生。

本研究试图通过分析 NAFLD 与心房颤动间的相关性,以及对比是否合并 NAFLD 的 T2DM 患者间并发心房颤动的比例和最终脑卒中事件的发生情况,从病因学的角度分析 NAFLD 引起的肝外病理变化对 T2DM 患者并发脑卒中的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 6 月至 2017 年 8 月在重庆市涪陵中心医院和四川省人民医院神经内科、心内科、内分泌科门诊就诊或住院的所有明确诊断的 T2DM 患者。诊断标准:空腹血糖大于或等于 7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血糖大于或等于 11.1 mmol/L 或糖化血红蛋白大于或等于 6.5%。排除标准:(1)植入起搏器或除颤仪者;(2)心脏瓣膜疾病患者及人工瓣膜植入者;(3)恶性肿瘤糖尿病肾病患者;(4)肝硬化及其他已知病因的慢性肝脏疾病,如病毒、血色病过量饮酒(女性大于 20 g/d,男性大于 30 g/d)。研究经医院伦理委员会讨论通过,纳入研究者均充分知悉研究流程并签署知情同意书。对所有纳入研究者均进行长期随访。

1.2 方法

1.2.1 资料采集 采集纳入研究者的基础资料,包括性别、年龄、身高、体质量、既往病史、饮酒史、吸烟

史、家族史,根据计算公式: $BMI = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}^2(\text{m}^2)$, $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ 诊断为肥胖;采集清晨空腹血糖检测糖化血红蛋白、血脂、血糖和肝功能。对所有纳入研究者进行普通心电图及 24 h 动态心电图监测,记录心房颤动、心房扑动及左室高电压发生情况。检查结果由两位有经验的心电图医生分别读图分析,如无任何异议则结果有效。所有纳入研究者均进行肝脏彩色多普勒超声检查,同样由两位有经验的超声医生分别对其是否合并 NAFLD 做出诊断,若无异议则诊断成立。结合患者饮酒史将疑似及可确诊的酒精性脂肪肝患者剔除研究。

1.2.2 分组 按是否并发心房颤动将纳入研究的 T2DM 患者分为未并发心房颤动组(307 例)及并发心房颤动组(43 例),对比分析两组患者的基本情况。将差异有统计学意义的项目构建回归方程,研究 NAFLD 与心房颤动间的相关性。按是否诊断 NAFLD 将研究者分为不合并 NAFLD 组(93 例)及合并 NAFLD 组(257 例),对比分析心房颤动及最终并发脑卒中的情况。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验;相关分析选用 Logistic 回归,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 有无并发心房颤动组患者基本情况及合并 NAFLD 的情况比较 并发心房颤动组中女性患者比例更高,年龄更大,高血压患者比例更高,左室高电压检出率更高,慢性阻塞性肺疾病、心力衰竭、瓣膜性心脏病、甲状腺功能亢进症发生率更高,谷氨酰转肽酶水平更高,且合并 NAFLD 的比例更高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者基本情况及合并 NAFLD 的情况比较

项目	未并发心房颤动组($n=307$)	并发心房颤动组($n=43$)	t/χ^2	P
女性患者百分比[$n(\%)$]	134(43.6)	27(62.8)	5.564	0.018
年龄($\bar{x} \pm s$, 年)	66 \pm 12	74 \pm 10	4.170	<0.001
抽烟[$n(\%)$]	45(14.7)	3(7.0)	1.881	0.170
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m^2)	30.5 \pm 7.2	30.6 \pm 7.4	0.085	0.932
肥胖[$n(\%)$]	149(48.5)	21(48.8)	0.001	0.970

续表 1 两组患者基本情况及合并 NAFLD 的情况比较

项目	未并发心房颤动组($n=307$)	并发心房颤动组($n=43$)	t/χ^2	P
T2DM 病程($\bar{x}\pm s$,年)	11.0 \pm 4.6	12.0 \pm 4.3	1.350	0.179
高血压[$n(\%)$]	242(78.8)	40(93.0)	4.856	0.028
收缩压($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	144 \pm 19	135 \pm 20	2.890	0.004
舒张压($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	81 \pm 11	78 \pm 12	1.660	0.099
左室高电压[$n(\%)$]	92(30.0)	21(48.8)	6.143	0.013
慢性阻塞性肺疾病[$n(\%)$]	18(5.9)	6/37(14.0)	3.865	0.049
充血性心力衰竭[$n(\%)$]	133(43.3)	34(79.1)	19.319	<0.001
瓣膜性心脏病[$n(\%)$]	31(10.1)	9(20.9)	4.372	0.037
缺血性心肌病[$n(\%)$]	71(23.1)	14(32.6)	1.824	0.177
甲状腺功能亢进症[$n(\%)$]	7(2.3)	4(9.3)	6.110	0.013
糖化血红蛋白($\bar{x}\pm s$,%)	9.6 \pm 2.6	8.6 \pm 2.5	2.370	0.018
总胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	4.6 \pm 1.2	4.1 \pm 1.0	2.610	0.010
高密度脂蛋白胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.06 \pm 0.40	1.02 \pm 0.30	0.631	0.528
低密度脂蛋白胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	2.6 \pm 1.1	2.2 \pm 1.2	2.210	0.028
三酰甘油($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.56 \pm 0.80	1.45 \pm 0.70	0.857	0.392
门冬氨酸氨基转移酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	20.0 \pm 3.8	19.0 \pm 4.1	1.600	0.110
丙氨酸氨基转移酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	19.0 \pm 3.6	20.0 \pm 3.3	1.720	0.086
谷氨酰转肽酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	29.0 \pm 3.2	36.0 \pm 3.4	13.300	<0.001
NAFLD[$n(\%)$]	219(71.3)	38(88.4)	5.611	0.018

2.2 心房颤动相关危险因素的 Logistic 回归分析 Logistic回归分析显示独立于其他危险因素, NAFLD 仍是 T2DM 患者并发心房颤动的独立预测因素,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 心房颤动相关危险因素的 Logistic 回归分析

项目	OR	95%CI	P
性别	0.69	0.37~1.22	0.181
年龄	1.06	1.03~1.09	<0.001
收缩压	0.87	0.97~1.07	0.067
左室高电压	1.18	0.70~1.87	0.087
慢性阻塞性肺疾病	1.79	0.79~3.97	0.079
充血性心力衰竭	3.18	1.38~6.49	<0.001
瓣膜性心脏病	1.07	0.53~2.17	0.085
甲状腺功能亢进症	4.91	1.42~16.68	<0.001

续表 2 心房颤动相关危险因素的 Logistic 回归

项目	OR	95%CI	P
糖化血红蛋白	0.89	0.69~1.04	0.075
总胆固醇	1.01	0.99~1.02	0.203
低密度脂蛋白胆固醇	1.13	1.11~1.18	0.067
谷氨酰转肽酶	1.26	0.92~1.72	0.112
NAFLD	5.88	2.72~12.72	<0.001

2.3 有无合并 NAFLD 患者基本情况、心房颤动及脑卒中发生情况 合并 NAFLD 组发生心房颤动的概率高于不合并 NAFLD 组(14.6% vs. 5.4%, $P=0.018$),发生脑卒中事件的概率也增加(25.3% vs. 8.6%, $P=0.001$),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组基本情况、心房颤动及脑卒中发生情况

项目	不合并 NAFLD 组($n=93$)	合并 NAFLD 组($n=257$)	t/χ^2	P
男/女(n/n)	46/47	143/114	1.050	0.306
年龄($\bar{x}\pm s$,年)	69 \pm 15	64 \pm 14	2.895	0.004
抽烟[$n(\%)$]	10(10.7)	37(14.4)	0.780	0.377
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	27.7 \pm 5.8	31.6 \pm 6.9	4.863	<0.001
肥胖[$n(\%)$]	27(29.0)	143(55.6)	19.357	<0.001
糖尿病病程($\bar{x}\pm s$,年)	13.0 \pm 3.8	11.0 \pm 4.1	4.110	<0.001

续表 3 两组基本情况、心房颤动及脑卒中发生情况

项目	不合并 NAFLD 组(n=93)	合并 NAFLD 组(n=257)	t/ χ^2	P
高血压[n(%)]	71(76.3)	217(84.4)	3.067	0.080
收缩压($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	142±19	143±20	0.419	0.676
舒张压($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	78±11	82±10	3.217	0.001
左室高血压[n(%)]	29(31.2)	89(34.6)	0.363	0.547
慢性阻塞性肺疾病[n(%)]	6(6.5)	17(6.7)	0.003	0.957
充血性心力衰竭[n(%)]	41(44.1)	127(49.4)	0.777	0.378
瓣膜性心脏病[n(%)]	11(11.8)	30(11.7)	0.002	0.968
缺血性心肌病[n(%)]	27(29.0)	60(23.3)	1.182	0.227
甲状腺功能亢进症[n(%)]	2(2.2)	9(3.5)	0.410	0.522
糖化血红蛋白[n(%)]	8.8±2.6	9.9±2.3	3.815	<0.001
总胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	4.26±1.20	4.61±1.10	2.566	0.011
高密度脂蛋白胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.13±0.40	1.02±0.30	2.760	0.006
低密度脂蛋白胆固醇($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	2.45±1.10	2.65±1.00	1.609	0.109
三酰甘油($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.22±0.16	1.81±0.21	24.622	<0.001
门冬氨酸氨基转移酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	19.0±4.2	20.0±4.6	1.837	0.067
丙氨酸氨基转移酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	17.0±2.2	22.0±2.6	16.524	<0.001
谷氨酰转氨酶($\bar{x}\pm s$,U/L)	25.0±2.8	34.0±3.6	21.831	<0.001
血管紧张素转化酶抑制剂[n(%)]	45(48.4)	141(54.9)	1.150	0.283
血管紧张素受体阻滞剂[n(%)]	20(21.5)	59(23.0)	0.082	0.774
钙通道拮抗剂[n(%)]	31(33.3)	87(33.9)	0.008	0.928
β 受体阻滞剂[n(%)]	39(31.2)	84(32.7)	0.070	0.791
抗血小板药物[n(%)]	57(61.3)	151(58.8)	0.182	0.670
口服抗凝药[n(%)]	10(10.8)	38(14.8)	0.939	0.333
胰岛素[n(%)]	62(66.7)	174(67.7)	0.033	0.855
其他口服降糖药[n(%)]	9(9.7)	26(10.1)	0.015	0.904
心房颤动[n(%)]	5(5.4)	38(14.8)	5.611	0.018
脑卒中[n(%)]	8(8.6)	65(25.3)	11.523	0.001

3 讨 论

T2DM 与 NAFLD 均为世界范围内多发的非传染性流行病,两种疾病均与胰岛素抵抗相关,且常常相伴出现^[4]。本研究纳入的 T2DM 患者中合并 NAFLD 患者占 70%以上,与既往研究结果一致。既往研究同时指出,T2DM 患者发展为 NAFLD、严重的肝纤维化及肝硬化的风险更高^[5]。同时,合并 NAFLD 的 T2DM 患者多并发包括肾小球滤过率异常^[6]、心脏血管病变^[7]、心律失常^[8]等病变。但 NAFLD 在临床上常常被忽视,尤其在肝功能正常时^[9],因此可能错过 NAFLD 患者肝外疾病的早期干预时机。T2DM 患者中合并 NAFLD 的概率高,两种疾病并存时并发肝外疾病的风险也更高,及时发现此类患者并充分评估其并发肝外疾病的风险具有极大的临床意义。

既往关于 T2DM 脑卒中风险的探讨多聚焦在

T2DM 引起的脑动脉血管粥样硬化等血管病变的角度,而如前文所述 T2DM 与 NAFLD 两种疾病叠加出现时亦可能加重脑血管的病理变化^[10]。新近的研究发现合并 NAFLD 的 T2DM 患者发生包括心房颤动、房室传导组织、室性心动过速等多种心律失常的风险增加^[8,11]。本研究亦指出 T2DM 合并 NAFLD 患者发生心房颤动的概率明显高于不合并 NAFLD 者,差异有统计学意义($P<0.05$)。基于心房颤动与脑卒中事件发生的直接联系^[12],上述系列研究为临床进一步明确 T2DM 并发脑卒中的病因学提供了新的思路。与此同时,及时监测、尽早发现 T2DM 合并 NAFLD 患者的心律失常病变对于此类慢性病患者的管理也具有非常积极的意义。

NAFLD 患者常在心肌、心包等肝外器官出现脂肪堆积^[13],心肌脂肪变性被认为是 T2DM 患者发生左心室舒张功能不全的独立预测因素^[14],且在此类患

者中心肌内三酰甘油水平与肝内三酰甘油水平明显呈正相关^[15]。新近的研究进一步指出独立于其他危险因素,心包脂肪水平增加与左心房容量增加有关且最终可增大发生心房颤动的风险^[15]。综上所述,合并 NAFLD 的 T2DM 患者可能因为在心肌或心包出现了脂肪堆积,导致左心房容量增加及左心室舒张功能不全,从而增加了发生心房颤动的概率,可能因此加大了发生脑卒中的风险。

然而,既往临床研究中,直接探讨心房颤动与 NAFLD 间的关系的研究极少,但 MARKR 等^[16]研究指出,28% 的门诊心房颤动患者出现了丙氨酸氨基转移酶升高(>40 U/L)。另一项长达 10 年的针对非心力衰竭患者的大样本量(3 744 例)随访研究则指出门冬氨酸氨基转移酶或丙氨酸氨基转移酶的升高增加了心房颤动发生的风险,并且这种相关性是独立于其他常见的心房颤动危险因素的^[17]。NAFLD 患者不一定存在肝功能异常,本研究关注的是两种非传染性流行病 NAFLD 和 T2DM 同时存在的状态下,心房颤动和脑卒中的发生情况,因而具有更高的临床实用性,为临床从病因学的角度降低此类患者脑卒中的发生率提供了新的思路。

但本研究尚存在一定的局限性,首先样本量相对有限,且研究仅在两个医院开展,结果可能存在一定偏倚,尚需要多中心大样本量研究证实;其次本研究为临床研究,随访还在继续中,且所有结果亦需要进一步的病理等基础研究印证。

参考文献

- [1] 若扎·包拉特江,周贤惠,汤宝鹏,等. 4 490 例非瓣膜性心房颤动患者脑卒中相关危险因素分析[J]. 中华心律失常杂志,2017,21(3):251-256.
- [2] 杨艳敏,颜红兵,朱俊,等. 解读美国心脏协会/美国心脏病学会/心学会最新心房颤动治疗指南[J]. 中华心血管病杂志,2014,42(11):971-973.
- [3] KÄRÄJÄMÄKI A J, PÄTISI O P, SAVOLAINEN M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease as a predictor of atrial fibrillation in middle-aged population (OPERA study) [J]. PLoS ONE, 2015, 10(11):e0142937.
- [4] FORLANI G, GIORDA C, MANTI R, et al. The burden of NAFLD and its characteristics in a nationwide population with type 2 diabetes[J]. J Diabetes Res, 2016, 2016(1):2931985.
- [5] MANTOVANI A, PERNIGO M, BERGAMINI C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with early left ventricular diastolic dysfunction in patients with type 2 diabetes[J]. PLoS One, 2015, 10(8):e229.
- [6] SHEN Z, MUNKER S, LUO F, et al. Effect of non-alcoholic fatty liver disease on estimated glomerular filtration rate could be dependent on age[J]. PLoS One, 2015, 10(6):e0130614.
- [7] TARGHER G, BYRNE C D. Clinical review: nonalcoholic fatty liver disease: a novel cardiometabolic risk factor for type 2 diabetes and its complications[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(2):483-495.
- [8] MANTOVANI A, RIGAMONTI A, BONAPACE S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with ventricular arrhythmias in patients with type 2 diabetes referred for clinically indicated 24-hour holter monitoring [J]. Diabetes Care, 2016, 39(8):1416-1423.
- [9] TARGHER G, DAY C P, BONORA E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. N Engl J Med, 2010, 363(14):1341-1350.
- [10] ANSTEE Q M, TARGHER G, DAY C P. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(6):330-344.
- [11] MANGI M A, MINHAS A M, REHMAN H, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with conduction defects on electrocardiogram [J]. Cureus, 2017, 9(3):e1107.
- [12] 王建刚,席建堂,李劲松,等. 老年非瓣膜性心房颤动患者发生缺血性脑卒中的危险因素分析[J]. 中国循环杂志, 2015, 25(8):753-756.
- [13] RIJZEWIJK L J, VAN DER MEER R W, SMIT J W, et al. Myocardial steatosis is an independent predictor of diastolic dysfunction in type 2 diabetes mellitus[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(22):1793-1799.
- [14] FOX C S, GONA P, HOFFMANN U, et al. Pericardial fat, intrathoracic fat, and measures of left ventricular structure and function: the framingham heart study[J]. Circulation, 2009, 119(12):1586-1591.
- [15] THANASSOULIS G, MASSARO J M, O'DONNELL C J, et al. Pericardial fat is associated with prevalent atrial fibrillation: the framingham heart study [J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2010, 3(4):345-350.
- [16] MAKAR G A, WEINER M G, STEPHEN E, et al. Incidence and prevalence of abnormal liver associated enzymes in patients with atrial fibrillation in a routine clinical care population [J]. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2008, 17(1):43-51.
- [17] SINNER M F, WANG N, FOX C S, et al. Relation of circulating liver transaminase concentrations to risk of new-onset atrial fibrillation[J]. Am J Cardiol, 2013, 111(2):219-224.