Primer Hiperparatiroidizmli Hastada Minimal İnvaziv Paratiroidektomi Öncesi Ultrasonografi Eşliğinde Metilen Mavisi ile Boyama Yönteminin Bir Olgu Eşliğinde Değerlendirilmesi

Before Minimally Invasive Parathyroidectomy in Patients with Primary Hyperparathyroidism Ultrasonography with Methylene Blue Staining Accompaniment: Case Guided Review

Aykut Soyder¹, Mustafa Ünübol², Eyüp Murat Yılmaz¹, Engin Güney²

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Aydın, Türkiye

Öz

Primer hiperparatiroidizm, parathormonun aşırı sekresyonu ile giden endokrin bir hastalıktır. Hastalarının çoğunda altta yatan neden paratiroid adenomdur. Paratiroid adenomun cerrahi eksizyonu genellikle kesin tedavisini sağlamaktadır. Paratiroid bezlerinin geniş anatomik konumu, şekil ve sayısındaki değişiklik sebebiyle cerrahide bazı lokalizasyon bulma zorluklarına sebep olabilmektedir. Özellikle boyun cerrahisi geçirmiş bir hastada paratiroidektomi, endokrin cerrah için halen önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu hastalarda lokalizasyonu saptamak daha güçtür. Daha önce boyun cerrahisi geçirmemiş hastalara göre rekürren laringeal sinir hasarı ve postoperatif hipokalsemi görülme artışı daha fazla olup, daha düşük kür oranları mevcuttur. Biz bu olguda preoperatif ultrasonografi eşliğinde paratiroid adenom düşünülen lezyona metilen mavisi ile boyama yapıp operasyon sırasında lezyonun kolay tespit edilebilirliğini ve postoperatif tedavi başarısını değerlendirdik.

Anahtar Kelimeler

Paratiroid adenom, metilen mavisi, minimal invaziv paratiroidektomi

Keywords

Parathyroid adenoma, methylene blue, minimally invasive parathyroidectomy

Geliş Tarihi/Received : 30.12.2014

Kabul Tarihi/Accepted : 08.10.2015

doi:10.4274/meandros.2042

Yazışma Adresi/Address for Correspondence:

Dr. Eyüp Murat Yılmaz

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Genel Cerrahi Anabilim Dalı , Aydın, Türkiye

Telefon: +90 256 444 12 56

E-posta: drmyilmaz80@gmail.com

Abstract

Primary hyperparathyroidism is an endocrine disease leading to excessive secretion of parathyroid hormone. In most patients with underlying cause of parathyroid adenoma. Parathyroid adenoma excision usually provides the definitive treatment. Wide anatomic location of the parathyroid gland due to changes in the shape and number can lead to difficulty of finding so me localization in the surgery. Especially parathyroidectomy had neck surgery in a patient poses a problem for endocrine surgeons stil important. It is more difficult to determine the localization in this patients. Compared to patients previously undergone neck surgery recurrent laryngeal nevre damage and increased incidence of postoperative hypocalcemia is more, there is a lower cures. In this case; we evaluated preoperative ultrasound-guided parathyroid adenoma lesions considered by the methylene blue lesion detectability make painting easier during the operation and the postoperative treatment success.

Giriş

Primerhiperparatiroidizm, negatif feedback mekanizmaların fizyolojik kontrolü dışında, parathormonun (PTH) aşırı sekresyonu ile giden endokrin bir hastalıktır. Hastaların çoğunda altta yatan neden paratiroid adenomdur (1). Paratiroid adenomun cerrahi eksizyonu genellikle kesin tedavisini sağlamaktadır (2). Paratiroid adenomunun tedavisinde son yıllarda minimal invaziv paratiroidektomi (MİP) sık olarak yapılmaya başlanmış ve günümüzde ilk planda tercih edilmektedir. Paratiroid bezlerinin geniş anatomik konumu, şekil ve sayısındaki değişiklik sebebiyle cerrahide bazı lokalizasyon bulmazlıklarına sebep olabilmektedir (3,4). Özellikle boyun cerrahisi geçirmiş bir hastada paratiroidektomi, endokrin cerrah için halen önem bir sorun oluşturmaktadır (5). Bu hastalarda lokalizasyonu saptamak daha güçtür. Daha önce boyun cerrahisi geçirmemiş hastalara göre reküren laringeal sinir hasarı ve postoperatif hipokalsemi görülme artışı daha fazla olup, daha düşük kür oranları mevcuttur (5-7). Preoperatif ve intraoperatif görüntüleme ile adenomun yerinin tespit edilmesi postoperatif komplikasyon riskini azaltmak için çok önemlidir (5). Preoperatif dönemde paratiroid lokalizasyonu için boyun ultrasonografi (USG), Tc99m sestamibi sintigrafi, magnetik rezonans (MR) görüntüleme, bilgisayarlı tomografi (BT), nodül aspirasyon sıvısında PTH ölçümü gibi yöntemler rutin olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda intraoperatif gama prob kullanımı, PTH ölçümü gibi yöntemler paratiroidektomide başarı şansını artıran yöntemler uygulanabilmektedir (8).

Operasyon öncesi USG eşliğinde metilen mavisi ile boyama tekniği yeni bir teknik olup rutin olarak kullanılmamaktadır. Literatürde bildirilen birkaç vaka serilerinde intraoperatif lezyonun tespiti için başarılı sonuçlar bildirilmiştir (5,9). Biz bu olguda preoperatif USG eşliğinde paratiroid adenom düşünülen lezyona metilen mavisi ile boyama yapıp MİP sırasında lezyonun kolay tespit edilebilirliğini ve postoperatif tedavi başarısını değerlendirdik. Bu olgu ile, literatürde sınırlı sayıda vaka düzeyinde bildirilmiş yeni kullanıma giren bu teknik ile ilgili ilk deneyimimizi paylaşmayı amaçladık.

Olgu Sunumu

Altmış yaşında bayan hasta, yaklaşık 12 yıl önce nodüler guatr tanısı ile subtotal tiroidektomi

operasyonu geçirmiş. Kaşıntı şikayeti ile dermatoloji polikliniğine başvuran hastada herhangi bir dermatolojik patolojiye rastlanmamış. Yapılan tetkiklerinde serum kalsiyum (Ca) düzeyi 10.4 mg/dL (8,5-10,2 mg/dL) saptanması üzerine yönlendirilmiş. Hastanın serum PTH düzeyi 215 pg/mL (16-88 pg/mL), serum albumin düzeyi 4,5 g/dL, serum fosfor düzeyi 3,5 mg/dS (2,3-4,7 mg/dS) saptandı. Primer hiperparatiroidizm düşünülen hastaya yapılan boyun USG'de tiroid bez sağ lob alt polde yaklaşık 18x14x10 mm çapında paratiroid adenom ile uyumlu hipoekoik, düzgün sınırlı lezyon saptandı. Paratiroid technetium-99m (Tc99m) sestamibide tiroid bezi sağ lob alt polde paratiroid adenomu ile uyumlu aktivite artışı mevcuttu. Asemptomatik primer hiperparatiroidizm saptanan hastada cerrahi endikasyonlar değerlendirildi. Hastanın tekrarlayan renal taş öyküsü yoktu. Serum kreatinin 0,8 mg/dL idi. Yapılan kemik dansitometrisinde (Dual enerji X-ray absorptiometri) lomber total T skor -3,2, Z skor -3 olarak saptandı. 24 saatlik idrarda kalsiyum atılımı 325 mg/gün idi. Serum 25OH D vitamin düzeyi 26,8 ng/mL idi. Hastanın görüntülemede paratiroid adenom saptanmış olması ve asemptomatik primer hiperparatiroidizmin cerrahi endikasyonlarını (10) taşıması nedeniyle MİP yapılması planlandı. Hastaya operasyon ile ilgili bilgiler anlatıldı ve onam alındı. Preoperatif olarak hastaya Endokrinoloji polikliniğinde USG eşliğinde sağ lob alt polde izlenen lezyona yönelik olarak metilen mavisi uygulanması planlandı. USG ile paratiroid adenom düşünülen lezyonun yeri belirlenip izo-propil alkol ile temizlendi. 5 cc'lik steril enjektöre 4 cc salin solüsyonu ile %1'lik 1cc metilen mavisi solüsyonu karıştırılarak dilüe edildi (5). Bir cc'lik steril enjektöre çekildi. Hastaya 23 gauge steril iğne ile yaklaşık 0.3 cc önceden dilüe edilerek hazırlanmış metilen mavisi solüsyonu USG eşliğinde lezyon içine enjekte edildi. Hasta yaklaşık 20 dakika sonra operasyona alındı. MİP uygulandı. Metilen mavisi ile boyanmış adenom ile uyumlu lezyon bulundu ve eksize edildi (Resim 1,2). Frozena yollandı ve frozen sonucu paratiroid bezi ile uyumlu olduğu bilgisi gelince işlem sonlandırılıp hasta servise alındı. Postoperatif 1.gün serum Ca: 9.3 mg/dL ve PTH: 18 pg/ml gelmesi üzerine hasta önerilerle taburcu edildi. Patoloji sonucu paratiroid adenom olarak saptandı. İzleminde herhangi bir postoperatif komplikasyon gelişmedi Postoperatif 6. ayında olan hastanın serum kalsiyum ve PTH değerleri normal

aralıkta olup paratiroid USG'de herhangi bir lezyon izlenmemektedir. Hasta sorunsuz izlenmektedir.

Tartışma

Primer hiperparatiroidizmde operasyon için izlenecek prosedür yıllar içinde değişime uğramış olup önceden boyun eksplorasyonu popüler iken günümüzde MİP altın standart olarak kabul edilmektedir (3,4). Minimal invaziv girişim ile tek paratiroid beze, bazen lokal anestezi altında, daha kısa ameliyat süresinde operasyon yapılabilmektedir. Bu durum hastanın hastanede kalış süresi kısaltmakta, kozmetik açıdan ve yara iyileşmesi açısından daha iyi sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (11,12). Ancak MİP'inin iyi uygulanabilmesi için preoperatif dönemde patolojik bezin ya da adenomun lokalizasyonunun

Resim 1. Metilen mavisi ile boyanan paratiroid adenomuşekilde tamamen kapatıldığı görüldü

Resim 2. Eksizyon sonrası mavi boyalı adenomun görünümü

çok iyi yapılması gerekmektedir (13). Boyun USG ve Tc99m sestamibi primer hiperparatiroidizmli her hastada önerilmektedir. Lezyonun tespit edilemediği durumlarda boyun MR ve BT kullanılan yöntemler arasındadır (8,13). Sestamibi tarama, etkilenen paratiroid lezyonun boyutu, konumu nedeniyle ve tiroid nodülü varlığında yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlar gösterebilir. Bu durumda, USG eşliğinde nodüle yapılan ince iğne aspirasyonu ile aspire edilen materyalde PTH ölçümü kullanılabilmektedir (14,15). Preoperatif lokalizasyon çalışmaları dışında, operasyon sırasında lezyonun kolay saptanabilmesi, ameliyat süresinin daha kısa olması, komplikasyon riskinin daha az olması için çeşitli intraoperatif yöntemler de kullanılmaktadır (8). İntraoperatif gama prob kullanarak paratiroid bezin bulunması, işlemi kolaylaştırılabilen intraoperatif yöntemlerdendir (11). Ancak her merkezde gama prob bulunmaması kullanımını kısıtlamaktadır.

Rutin kullanımlar dışında paratiroid cerrahisinde çeşitli uygulamalar denenmiştir. Özellikle intraoperatif intravenöz metilen mavisi infüzyonu anormal paratiroid bezinin saptanmasında kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (16,17). Van Der Vorst JR. ve ark. (15) yaptıkları çalışmada 12 hastaya intraoperatif 0,5 mg/kg metilen mavisi intravenöz olarak verilmiş ve paratiroid adenomunun metilen mavisini tuttuğu görülmüştür. Aynı çalışmada boyanan paratiroid dokusu ile preoperatif görüntüleme yöntemlerinin korele olduklarını söylemektedirler. Yine benzer bir çalışmada, Bewick J. ve ark. (17) 98 primer hiperparatiroidizm saptanan hastayı metilen mavisi infüzyonu (3,5 mg/kg) altında opere etmişler. Hastaların %78,6'sında pozitif boyanma saptanmış. Sonuç olarak bu seri ile intraoperatif metilen mavisi infüzyonunun preoperatif USG ve radyonükleotid görüntüleme ile anormal paratiroid bezlerini saptamada benzer duyarlılık oranları olduğu ve etkili bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. Ancak, intravenöz metilen mavisi uygulanan hastalarda konfüzyon, status epileptikus, metabolik ensefalopati, anafilaktik şok olabileceği bildirilmiştir (18). Candell ve ark. (5) daha önce boyun cerrahisi geçirmiş ve primer hiperparatiroidizm nedeniyle paratiroidektomi yaptıkları 9 olguya preoperatif USG eşliğinde metilen mavisi uygulamışlar. Rezeksiyon sonrası intraoperatif PTH ölçümlerinde %50'den fazla düşüş saptamışlar. Tüm hastalarda primer hiperparatiroidinin başarılı

şekilde tedavi edildiği bildirilmiştir. Boyun cerrahisi geçirmiş ve paratiroidektomi planlanan hastalarda anormal paratiroid dokusunun lokalize edilmesinde metilen mavisi enjeksiyonunun güvenli ve etkin bir yöntem olabileceği öne sürülmüştür. Ryan WR. ve ark. (9) çalışmasında 20 tümöre (15 papiller tiroid kanseri lenf nodu metastazı, 2 hurthle hücreli karsinom, 1 medüller tiroid kanser, 1 lenfoma ve 1 paratiroid adenom) metilen mavisi ile operasyon öncesi boyama yapılmış. Sonuç olarak, USG eşliğinde metilen mavisi ile boya enjeksiyonunun, tümör rezeksiyonu için uygun alana cerrahi yönlendirmesinde başarılı olduğu ve böylece muhtemelen cerrahi süresinin kısalmasına, örnekleme hatasının azalmasına ve morbiditeye yararlı olacağını öne sürmüşlerdir. Biz de, primer hiperparatiroidizm için MiP kararı aldığımız, USG ve Tc99m sestamibide paratiroid adenomu ile uyumlu lezyon saptadığımız olgumuza, preoperatif USG eşliğinde metilen mavisi ile lezyon içine boyama uyguladık. Preoperatif dönemde lezyona verdiğimiz boyayı işlemiden yaklaşık 20 dakika sonra doku tarafından tutulmuş olarak gördük. Metilen mavisi ile boyanmış anormal paratiroid dokusunun, preoperatif görüntüleme yöntemleri ile uyumluluk gösterdiğini saptadık. Böylece operasyon öncesi metilen mavisi ile boyanmış lezyonun, MiP sırasında kolaylıkla bulunup eksize edilmesini sağladık. Bu süre zarfında da boyanın farklı dokulara yayılmadığını ve lokalizasyon için bize direk yardımcı olabileceğini gördük. Bu durum ameliyat sırasında anormal paratiroid dokusunun kolaylıkla bulunmasına ve ameliyatın daha kısa sürede bitmesine yardımcı oldu. Bu uygulamamız, literatürde bildirilen sınırlı sayıdaki benzer olguların sonuçlarıyla uyumluluk göstermekteydi (5,9). Daha önce boyun cerrahisi geçirmiş hastalarda paratiroidektomi sonrası hastaların %3-10'unda kalıcı reküren laringeal sinir paralizi ve %10-20'sinde kalıcı hipoparatiroidizm görülebilmektedir (6). Candell ve ark. (5) metilen mavisi enjeksiyonu ile paratiroidektomi uyguladıkları 9 hastadan sadece 1'inde geçici reküren laringeal sinir paralizi bildirmişlerdir. Olgumuzda metilen mavisi ile boyama ve MiP sonrası herhangi bir komplikasyon saptanmadı. Ancak metilen mavisi ile boyaması sırasında lezyonun dışına metilen mavisi kaçırılması yada yanlış yere uygulanması operasyon sırasında regüren laringeal sinirin bulunmasını zorlaştırabileceğini düşünmekle birlikte Candell ve ark. (5) 9 hastalık

uygulanmasında reküren laringeal sinir paralizinde bir artış görülmemektedir. Preoperatif metilen mavisi uygulaması sırasında ince iğne kullanılarak paratiroid bezdeki lezyon içine girilmektedir. Paratiroid dokuya ince iğne aspirasyonunun potansiyel bir riskinin de bez kapsülündeki yırtılmaya bağlı hücrelerin ekilmesi (seeding-paratiromatozis) ve adenom nüksü olacağı düşüncesidir (19). Ancak, daha sık uygulanan paratiroid adenomu düşünülen lezyondan preoperatif PTH ölçümü işlemlerinde ince iğne aspirasyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu olguların değerlendirildiği serilerde, ince iğne aspirasyon sonrası primer hiperparatiroidizm rekürrensi bildirilmemiştir (14,15,19,20). Paratiroid doku içine ince iğne aspirasyon işleminin kapsüle zarar vererek doku tanısında paratiroid karsinom ve adenom açısından sorun oluşturabilir mi kuşkusuna da yer almaktadır. Paratiroid karsinom çok nadir bir neoplazm olup, primer hiperparatiroidili vakaların %1'inden azını oluşturmaktadır (21). Ünübol ve ark. (22) makalesinde de belirttiğimiz 2007-2011 tarihleri arasında opere edilen primer hiperparatiroidizmli 86 olgudan sadece 1 olguda paratiroid karsinom saptanmıştır. Çok nadir görülen paratiroid karsinomu için günümüzde hala Schantz ve Castleman'ın (23) yayınladığı histopatolojik kriterler kullanılmaktadır. Bu kriterlerde yoğun fibröz bantlarla ayrılan tümör hücre lobülleri ve yaprakları, mitotik aktivite, nekrozis, kapsül ve vasküler invazyon ile paratiroid karsinomu tanısı konulmaktadır. Bu nedenle tek başına kapsül bütünlüğünün işlem sırasında bozulmasının histopatolojik olarak adenom/karsinom ayırımında sorun teşkil edeceğini düşünmemekteyiz. Paratiroid içine ince iğne aspirasyon işlemi yapılan çalışmalarda da böyle bir sorun bildirilmemiştir (14,15,19,20).

Bu olgumuzda USG eşliğinde lokalize metilen mavisi uygulaması, intraoperatif boyanmış dokuyu rahatça tanıyıp ulaşmamıza, ameliyat süresinin kısalmasına ve komplikasyonsuz başarılı bir MiP uygulamasına yardımcı oldu. Sonuç olarak, bu olgu ile, literatürdeki sınırlı sayıdaki vaka sonuçlarıyla uyumlu olarak, preoperatif dönemde USG eşliğinde anormal paratiroid lezyonunu belirleyip metilen mavisi uygulanmasının, intraoperatif lokalizasyonu saptamada güvenli ve etkili bir şekilde yardımcı olacağı düşüncesindeyiz. Ancak bu uygulamanın daha geniş serilerle ve çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

- Johnson JT, Rosen CA: Bailey's Head & Surgery Otolaryngology, Volume 2. 5th edition. Baltimore MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- Williams BA, Trites JR, Taylor SM, Bullock MJ, Hart RD. Surgical management of primary hyperparathyroidism in Canada. J Otolaryngol Head Neck Surg. 2014;43:44.
- Lew JI, Solorzano CC. Surgical management of primary hyperparathyroidism: state of the art. Surg Clin North Am 2009;89:1205–25.
- Grant CS, Thompson G, Farley D, vanHeerden J. Primary hyperparathyroidism surgical management since the introduction of minimally invasive parathyroidectomy: Mayo Clinic experience. Arch Surg 2005;140: 472–8
- Candell L, Campbell MJ, Shen WT, Gosnell JE, Clark OH, Duh QY. Ultrasound-guided methylene blue dye injection for parathyroid localization in the reoperative neck. World J Surg. 2014;38:88-91.
- Grant CS, vanHeerden JA, Charboneau JW, James EM, Reading CC. Clinical management of persistent and / or recurrent primary hyperparathyroidism. World J Surg 1986;10:555–65
- Shen W, Duren M, Morita E, Higgins C, Duh Q-Y, Siperstein AE, et al. Reoperation for persistent or recurrent primary hyperparathyroidism. Arch Surg 1996;131:861–9
- Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Bandeira F, Griz L, Chaves N, Carvalho NC, Borges LM, et al. Diagnosis and management of primary hyperparathyroidism—a scientific statement from the Department of Bone Metabolism, the Brazilian Society for Endocrinology and Metabolism. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2013;57:406-24.
- Ryan WR, Orloff LA. Intraoperative tumor localization with surgeon performed ultrasound-guided needle dye injection. Laryngoscope 2011;121:1651-5.
- Marcocci C, Bollerslev J, Khan AA, Shoback DM. Medical management of primary hyperparathyroidism: proceedings of the fourth International Workshop on the Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99:3607-18
- Ilgan S, Ozbas S, Bilezikci B, Sengezer T, Aydın OU, Gursoy A, et al. Radioguided occult lesion localization for minimally invasive parathyroidectomy: technical consideration and feasibility. Nucl Med Commun. 2014;35:1167-74
- Soyder A, Ünübol M, Ömürlü İK, Güney E, Özbaş S. Minimally invasive parathyroidectomy without using intraoperative parathyroid hormone monitoring or gamma probe. Ulusal Cer Derg 2014 DOI:10.5152/UCD.2014.2572
- Keereweer S, Kerrebijn JD, vanDriel PB, Xie B, Kaijzel EL, Snoeks TJ, Que I, et al. Optical image-guided surgery where do we stand? Mol Imaging Biol 2011;13:199–207.
- Marcocci C, Mazzeo S, Bruno-Bossio G, Picone A, Vignali E, Ciampi M, et al. Preoperative localization of suspicious parathyroid adenomas by assay of parathyroid hormone in needle aspirates. Eur J Endocrinol. 1998;139:72-7
- Erbil Y, Salmaslıoğlu A, Kabul E, İşsever H, Tunaci M, Adalet I, Bozbora A, Ozarmağan S. Use of preoperative parathyroid fine-needle aspiration and parathormone assay in the primary hyperparathyroidism with concomitant thyroid nodules. Am J Surg. 2007;193:665-71.
- Van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP, Swijnenburg RJ, Tummers QR, Hutteman M, et al. Intraoperative near-infrared fluorescence imaging of parathyroid adenomas with use of low dose methylene blue. Journal Head&neck 2014;36:853-8
- Bewick J, Pfeleiderer A. The value and role of low dose methylene blue in the surgical management of hyperparathyroidism. Ann R Coll Surg Engl. 2014;96:526-9.
- Derom A, Wallaert P, Janzing H, Van den Brande F, Derom F. Intraoperative identification of parathyroids by means of methylene blue. Acta Chir Belg 1994;94:97–100
- Kendrick ML, Charboneau JW, Curlee KJ, van Heerden JA, Farley DR. Risk of parathyromatosis after fine-needle aspiration. Am Surg. 2001;67:290-4
- Giusti M, Dolcino M, Vera L, Ghiara C, Massaro F, Fazzuoli L, et al. Institutional experience of PTH evaluation on fine-needle washing after aspiration biopsy to locate hyperfunctioning parathyroid tissue. J Zhejiang Univ Sci B. 2009;10:323-30
- Shane E. Clinical review 122. Parathyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:485–93.
- Ünübol M, Güney E, Soyder A, Özbaş S, Erkuş M. A rare malignancy in the elderly patient : Parathyroid Carcinoma. Turkish Journal of Geriatrics 2012; 15:215-8
- Schantz A, Castleman B. Parathyroid carcinoma: A study of 70 cases. Cancer 1973;31:600-5.