

1973—2019 年广西肝癌死亡率时空趋势研究

蒋龙艳, 蓝桃, 成曼, 林越东, 陈宁, 朱曼桐, 唐咸艳
(广西医科大学公共卫生学院, 广西南宁 530021)

摘要: [目的] 探讨 1973—2019 年广西各县区肝癌死亡率的时空变化趋势。[方法] 收集 1973—1975 年全国第一次死因调查中的广西各县区肝癌死亡资料及 2018—2019 年广西各县区居民的肝癌死因监测资料。通过空间自相关和扫描统计量对肝癌死亡率进行时空趋势分析。[结果] 与 1973—1975 年相比, 2018—2019 年广西肝癌死亡率上升了 68.61%。近 50 年来, 稳定的高死亡率县区在桂西南地区, 稳定的低死亡率县区在桂北、桂东和桂南沿海地区, 死亡率降低的县区在桂西北地区, 死亡率升高的县区在桂西南和桂东南地区。空间自相关分析发现, 肝癌死亡率存在空间正相关关系, 呈聚集性分布 (Moran's $I > 0$, $P < 0.01$), “高-高”聚集区在桂西南地区, 但高死亡聚集区的空间范围随时间推移呈缩小趋势。空间扫描统计量发现, 肝癌高死亡率主要聚集在桂西南地区, 但近年来桂东南地区新现散在的小范围高死亡聚集区。[结论] 近 50 年来, 广西肝癌死亡率有所上升, 且存在明显的空间聚集性, 既有稳定的高死亡率县区 and 稳定的低死亡率县区, 也有死亡率升高的县区和死亡率降低的县区。建议因地制宜, 加强广西肝癌的区域性综合防治。

关键词: 肝癌; 死亡率; 时空趋势; 广西

中图分类号: R735.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2023)01-0015-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2023.01.A003

The Spatio-temporal Trends of Mortality Rate of Liver Cancer in Guangxi from 1973 to 2019

JIANG Long-yan, LAN Tao, CHENG Man, LIN Yue-dong, CHEN Ning, ZHU Man-tong, TANG Xian-yan

(School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: [Purpose] To explore the spatio-temporal trends of primary liver cancer mortality in Guangxi at the county level during 1973—2019. [Methods] The date of liver cancer death in Guangxi counties and districts in the first national cause-of-death investigations from 1973 to 1975, as well as the liver cancer death cause monitoring data of residents in Guangxi counties and districts from 2018 to 2019, were collected. The spatio-temporal trends of liver cancer mortality were analyzed by spatial auto-correlation and scan statistics. [Results] Compared with 1973—1975, the mortality rate of liver cancer in Guangxi increased by 68.61% during 2018—2019. In the past 50 years, the stable counties with high mortality rates located in southwest of Guangxi. The stable counties with low mortality rates located in the coastal areas of south, east and north of Guangxi. The counties with reduced mortality rates located in northwest of Guangxi. The counties with increased mortality rates located in the southwest and southeast of Guangxi. Spatial auto-correlation analysis found that there was a positive spatial correlation in mortality of liver cancer in each period, showing a clustered distribution (Moran's $I > 0$, $P < 0.01$). The “high-high” cluster was in southwest of Guangxi, but the spatial extent of high mortality cluster tended to shrink over time. Spatial scan statistic showed that high mortality rate of liver cancer in each period was mainly concentrated in southwest of Guangxi, but in recent years, there has been scattered small-scale high mortality clusters in southeast of Guangxi. [Conclusion] In the past 50 years, the mortality rate of liver cancer in Guangxi Province has increased. The risk of liver cancer death in Guangxi has significant spatial cluster. The province has stable high mortality counties and stable low mortality counties, as well as counties with increasing mortality and decreasing mortality. It is suggested to strengthen the regional comprehensive prevention and treatment of liver cancer in Guangxi according to local conditions.

Key words: liver cancer; mortality rate; spatio-temporal trend; Guangxi

收稿日期: 2022-07-09; 修回日期: 2022-08-28

基金项目: 美国中华医学基金会 (CMB 19-307)

通信作者: 唐咸艳, E-mail: tangxianyan0746@163.com

肝癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,给人类造成了严重的疾病负担。全球癌症数据显示^[1],2020年全球肝癌新发病例905 677例,死亡病例830 180例,其标化发病率和死亡率分别为9.5/10万和8.7/10万,肝癌在癌症发病顺位排第5位,死因顺位排第3位。其中,我国肝癌新发病例数和死亡病例数均占全球总数的50%,发病率和死亡率约为世界平均水平的2倍,死亡顺位(第2位)高于发病顺位(第5位),疾病负担重,尤其是在农村和西部地区^[2]。广西是我国肝癌高发区,其发病率和死亡率远高于全国水平,也高于我国西部地区水平^[3],自1973年以来肝癌死亡率始终位居广西恶性肿瘤的首位^[4-6]。20世纪70年代以来,我国共开展了3次以恶性肿瘤为主的居民全死因回顾性调查,广西为调查现场之一。近年来,随着广西死因监测系统的不断完善和监测覆盖范围的不断扩大,死因监测资料的质量也得到极大提升。本研究基于全国死因回顾性调查和广西死因监测系统,探讨1973—2019年广西肝癌死亡率的长期变化趋势,掌握近50年来广西肝癌死亡风险在县尺度上的时空变迁格局,并探测出由低死亡风险升为高死亡风险的县区、由高死亡风险降为低死亡风险的县区、死亡风险高居不下的县区和死亡风险保持低位态势的县区,以此为区域化肝癌防控策略和措施的制定提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

20世纪70年代,第一次全国死因回顾性调查覆盖了中国大陆几乎所有地区(不包括港澳台地区和35个人口稀少的县)。1973—1975年,广西对全区所有居民进行调查,共计7 314万人年。第二次和第三次死因回顾调查为抽样调查,在广西的抽样比例均不超过10%,故本研究只采用全国第一次死因调查中广西各县区的死因回顾性调查数据,该数据包括肝癌死亡人数和各县区的人口数。

2018—2019年广西各县区的肝癌死亡数据来源于广西死因监测系统,人口数来源于广西统计年鉴。

1.2 死亡风险等级划分

按每千人计算各县区在不同时期内肝癌总死亡数与该时期内平均人口数的比值,得到不同时期各

县区的肝癌死亡率。以县区最低死亡率为下限,县区最高死亡率为上限,将此范围按相等间隔的方法将1973—1975年和2018—2019年两个时期各县区由高至低划分为三类:高死亡风险县区、中死亡风险县区和低死亡风险县区。

1.3 空间自相关分析

空间自相关是指在地理空间上的某属性值与相邻地区同一属性值之间的相似程度。通常以全局空间自相关统计量莫兰指数(Moran's I)来表示疾病空间分布是否存在自相关性及相关程度大小,其取值范围为 $[-1, 1]$ 。 $I > 0$ 表示呈空间正相关, $I < 0$ 表示呈空间负相关, $I = 0$ 表示不存在空间相关性^[7]。空间自相关分析采用蒙特卡洛法进行假设检验,若Moran's $I > 0$ 且 $P < 0.05$ 时,说明疾病分布具有空间聚集性;若Moran's $I < 0$ 且 $P < 0.05$ 时,说明疾病分布具有空间离散性。

局部空间自相关指标(local indicators of spatial association, LISA)象限图用于揭示疾病分布的4种空间关联模式^[8],即“高-高”空间关联模式表示高观测值的县区被高观测值的县区所围绕,具有空间正相关,疾病呈现聚集性分布;“高-低”空间关联模式表示高观测值的县区被低观测值的县区所围绕,具有空间负相关,疾病呈现离散性分布;“低-高”空间关联模式表示低观测值的县区被高观测值的县区所围绕,具有空间负相关,疾病呈现离散性分布;“低-低”空间关联模式表示低观测值的县区被低观测值的县区所围绕,具有空间正相关,疾病呈现聚集性分布。

1.4 空间扫描统计量

空间扫描统计的基本原理^[9]是在研究区域内,假定肝癌的死亡病例分布服从Poisson分布,采用圆形窗口对肝癌潜在的空间聚集区进行探测。扫描窗口的参数设置中,设定总人口的风险比例为25%,蒙特卡洛模拟次数为999次。对每个扫描窗口,根据实际死亡人数和人口数计算出理论死亡人数,然后利用扫描窗口内和扫描窗口外的实际死亡人数和理论死亡人数构造检验统计量对数似然比(log likelihood ratio, LLR)值,并通过蒙特卡洛模拟概率 P 值。

1.5 统计学处理

本研究利用Microsoft Excel 2010进行数据整理;运用GeoDa 1.18软件进行全局和局部空间自相关分析;使用SaTScan 9.7软件进行空间扫描统计分析。

2 结 果

2.1 广西肝癌死亡率变化

1973—1975 年肝癌死亡率为 17.11/10 万, 2018—2019 年肝癌死亡率为 28.85/10 万, 较 1973—1975 年上升了 68.61%。

2.2 死亡风险变化

广西肝癌高死亡率区主要分布桂西南地区, 低死亡率区主要分布在桂北和桂西北地区, 大多数县区的死亡率有所上升。1973—1975 年, 扶绥县肝癌死亡率最高, 其次是周边的隆安县、武鸣区、江州区等桂西南地区, 桂东及桂北地区肝癌死亡率较低。2018—2019 年, 隆安县成为肝癌死亡率最高的地区, 其次是周边的扶绥县、横州市、田东县等桂西南地区, 桂北和桂西北地区的肝癌死亡率较低。

与 1973—1975 年相比, 2018—2019 年广西各县肝癌死亡风险发生变化(Table 1)。其中, 由低风险区升为高风险区的是横州市、宾阳县、上林县、田东县和大新县, 由低风险区升为中风险区的有天等县、合浦县、苍梧县、全州县和东兰县等 37 个县区, 由中风险区升为高风险区的是隆安县、扶绥县和武鸣区, 维持中风险区的是港南区、港北区、江州区、平果市、忻城县、都安县和覃塘区, 由中风险区降为低风险区的是田林县和大化县, 维持低风险区的有乐业县、融水县、昭平县、灵山县和西乡塘区等 57 个县区。

2.3 时空变迁格局

1973—1975 年和 2018—2019 年广西肝癌死亡率的全局 Moran's *I* 分别是 0.45 和 0.35, 且 *P* 值均小于 0.01, 表明广西肝癌死亡率在县区尺度上存在空间正相关, 呈现聚集性分布。

广西肝癌死亡率的“高-高”空间关联模式均集

中在桂西南地区, 高死亡聚集区范围缩小(Table 1)。与 1973—1975 年相比, 2018—2019 年“高-高”空间关联模式覆盖的县区由 17 个下降至 14 个, “低-低”空间关联模式覆盖的县区由 20 个下降至 11 个, 且“低-低”空间关联模式覆盖的县区由桂东和桂东北地区转移至桂西北地区。

广西肝癌死亡聚集区主要分布在桂西南地区, 近年来桂东南地区有散在的小范围聚集区(Table 2)。1973—1975 年肝癌死亡主要聚集区以平果市为中心, 半径为 115.88 km, 覆盖扶绥县、隆安县、武鸣区、江州区、大化县等 17 个县区, 两个次级聚集区位于桂南地区。2018—2019 年肝癌死亡主要聚集区以西乡塘区为中心, 半径为 119.63 km, 覆盖隆安县、横州市、扶绥县、田东县、上林县等 20 个县区, 5 个次级聚集区分布在桂东南地区。

3 讨 论

与 1973—1975 年相比, 2018—2019 年广西肝癌死亡率有所上升。近几十年来, 稳定的高死亡率县区在桂西南地区, 稳定的低死亡率县区在桂北、桂东和桂南沿海地区, 死亡率降低的县区在桂西北地区, 死亡率升高的县区在桂西南和桂东南地区。广西肝癌死亡率呈现明显的空间聚集性, 近 50 年来死亡高风险区域稳定聚集在桂西南地区。

广西肝癌最主要的危险因素是乙型肝炎病毒、食物中黄曲霉毒素污染和饮用水不洁^[10]。广西位于西部沿海地区, 其常年温暖、潮湿的气候容易导致黄曲霉毒素在花生、玉米等农作物中生长并产生毒素。其中, 黄曲霉毒素 B₁(aflatoxin B₁, AFB₁) 最为常见, 且毒性最强, 是导致广西肝癌高发的重要因素。微囊藻毒素-LR (microcystin-LR, MC-LR) 污染是广西肝

Table 1 Spatial association modes of liver cancer mortality in Guangxi

Mode	County / District	
	1973—1975	2018—2019
High-High	Fusui, Long'an, Wuming, Jiangzhou, Tiandeng, Qintang, Xincheng, Jiangnan, Hengzhou, Mashan, Tiandong, Xixiangtang, Dahua, Bama, Du'an, Heshan, Pingguo	Fusui, Long'an, Wuming, Jiangzhou, Tiandeng, Qintang, Xincheng, Binyang, Qingxiu, Yongning, Xingning, Shanglin, Daxin, Xingbin
High-Low	—	Donglan, Youjiang
Low-High	Binyang, Shanglin, Ningming	Xixiangtang, Pingguo, Lingshan
Low-Low	Lingui, Lingchuan, Rongshui, Liucheng, Zhaoping, Yufeng, Mengshan, Luzhai, Sanjiang, Rongxian, Longsheng, Lipu, Pingnan, Rong'an, Jinxiu, Pingle, Tengxian, Babu, Yongfu, Liubei	Lingui, Lingchuan, Rongshui, Tian'e, Fengshan, Luocheng, Lingyun, Nandan, Xilin, Longlin, Leye

Table 2 Spatial clusters of liver cancer mortality in Guangxi

Period	Cluster type	Cluster areas	Cluster center	Radius (km)	LLR	RR	P
1973—1975	Most likely cluster	17	Pingguo	115.88	507.41	1.79	<0.001
	Secondary cluster 1	3	Gangbei	34.67	431.53	2.00	<0.001
	Secondary cluster 2	3	Haicheng	37.95	16.70	1.43	<0.001
2018—2019	Most likely cluster	20	Xixiangtang	119.63	956.00	1.79	<0.001
	Secondary cluster 1	1	Pingle	0.00	52.15	1.76	<0.001
	Secondary cluster 2	1	Rongxian	0.00	36.71	1.47	<0.001
	Secondary cluster 3	3	Tieshangang	23.66	19.75	1.24	<0.001
	Secondary cluster 4	1	Cangwu	0.00	18.21	1.47	<0.001
	Secondary cluster 5	1	Guiping	0.00	9.34	1.15	<0.005

Notes: LLR; log likelihood ratio; RR; relative risk

癌高发的另一个重要因素。广西地区原发性肝癌患者血清 MC-LR 水平高于健康人群,食用鱼生、长期饮用沟塘水可升高血清 MC-LR 水平,而以往在广西南部分地区的居民有喜食鱼生和饮用沟塘水的习惯^[11]。与 20 世纪 70 年代相比,近年来广西肝癌死亡率升高,其原因可能与乙型肝炎发病率的持续升高有关,自 1990 年以来,广西乙型肝炎发病率总体呈上升趋势^[12-13]。与 20 世纪 70 年代相比,广西部分县区肝癌死亡风险有所变化,说明不同年代、不同地区之间肝癌的危险因素发生了变化,寻找各地区肝癌危险因素的变化对不同地区肝癌的防控具有重要意义。

肝癌发病率和死亡率具有明显的地理差异。在全球,肝癌是东亚、东南亚以及北非和西非等地区最常见的癌症,是蒙古、泰国、柬埔寨和埃及等地区癌症死亡的主要原因^[1]。在我国,肝癌分布特点为沿海高于内地,东南和东北部高于西北、华北和西南部^[14]。本研究显示,1973—2019 年广西肝癌死亡率总体上表现为桂南高于桂北,桂东高于桂西,稳定的聚集区在桂西南地区,这主要与广西肝癌发病率的空间异质性有关。肖晓兰等^[15]对 2003—2012 年广西肝癌发病的时空趋势进行分析,发现广西肝癌高发区聚集在桂西南地区,且随着时间推移其聚集强度有增大趋势、空间聚集范围有扩大趋势,桂北和桂西北地区则为肝癌的低发区。这与本研究所揭示的广西肝癌死亡率地理分布特征相符。广西肝癌发病和死亡的地理差异既与病毒性肝炎基因型的空间分布差异有关,也与饮水中 MC-LR 水平的空间分布差异有关。研究显示^[16],广西乙型肝炎病毒(HBV)基因型以 C 基因型为主,其次为 B 基因型。C 基因型较其他基因型有较高的突变率,且感染者的预后较 B 基因型

差,更易发生肝硬化并进展成肝癌。在广西,HBV B 基因型主要分布在桂西、桂北地区,而 HBV C 基因型分布在桂东、桂南、桂中地区^[16]。饮用水中的 MC-LR 水平,在空间上呈现“南高北低”的分布趋势,崇左市、南宁市、防城港市和钦州市等桂西南地区的饮水中 MC-LR 水平高,桂林市、百色市

等桂北地区的饮水中 MC-LR 水平低^[17]。

本研究利用空间流行病学,从时空角度探讨广西肝癌死亡率的长期变化趋势,以及在县区尺度上的时空变迁格局,并探讨了时空变迁格局与肝癌危险因素在地区差异间的关系,这对不同地区肝癌的防控具有重要意义。但本研究存在一定的局限性。一是由于本研究所用数据的时间跨度较长,期间行政区划的调整可能导致结果存在一定误差。二是缺乏各年龄段的肝癌死亡例数和人口数,无法计算标准化死亡率,可能掩盖了人口老龄化对肝癌死亡率的影响。三是仅限于对 1973—2019 年广西肝癌死亡率长期趋势和时空变迁的分析,而对于研究区域的人口分布特征、肝癌死亡病例的人口学特征、各县区的卫生条件和经济状况等因素与肝癌死亡率的因果关系,本研究未做深入探讨。

综上,针对不同地区,尤其是肝癌死亡高聚区和新增的高风险地区,应开展相关病因学研究。高发和低发聚集区,应开展环境、遗传、生活方式等流行病学调查,以期找到空间聚集和死亡水平升高的主要原因,并采取有效的干预措施,制定区域化肝癌防控策略。高风险地区,人群仍需做好疫苗接种、慢性乙肝和丙肝患者抗病毒治疗、改善生活方式和环境条件、开展肝癌早诊早治等工作,这对广西肝癌防控具有重要意义。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Zheng R, Qu C, Zhang S, et al. Liver cancer incidence and

- mortality in China: temporal trends and projections to 2030[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(6): 571-579.
- [3] 李秋林, 曹骥, 容敏华, 等. 2010—2016 年广西肿瘤登记地区肝癌发病和死亡分析及变化趋势 [J]. 中国癌症防治杂志, 2021, 13(2): 138-143.
- Li QL, Cao J, Rong MH, et al. Analysis of incidence and mortality of liver cancer in cancer registration areas in Guangxi, 2010-2016 [J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2021, 13(2): 138-143.
- [4] 许晶晶, 毛玮, 蔡剑锋, 等. 1973—2015 年广西居民恶性肿瘤死亡率变化趋势分析 [J]. 应用预防医学, 2019, 25(5): 392-394.
- Xu JJ, Mao W, Cai JF, et al. Analysis on the trend of malignant tumor mortality in Guangxi, 1973-2015 [J]. Applied Preventive Medicine, 2019, 25(5): 392-394.
- [5] 周子寒, 李秋林, 余家华, 等. 2017 年广西肿瘤登记地区恶性肿瘤流行特征及疾病负担分析 [J]. 中国癌症防治杂志, 2022, 14(3): 264-273.
- Zhou ZH, Li QL, Yu JH, et al. Epidemiological characteristics and disease burden of malignant tumors in Guangxi tumor registration areas in 2017 [J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2022, 14(3): 264-273.
- [6] 杨进, 毛玮, 黄金梅, 等. 2019 年广西常住居民死因监测结果分析[J]. 应用预防医学, 2020, 26(6): 453-457, 462.
- Yang J, Mao W, Huang JM, et al. Analysis of the monitoring results of death causes of permanent residents in Guangxi in 2019[J]. Applied Preventive Medicine, 2020, 26(6): 453-457, 462.
- [7] Gwitira I, Mukonoweshuro M, Mapako G, et al. Spatial and spatio-temporal analysis of malaria cases in Zimbabwe[J]. Infect Dis Poverty, 2020, 9(1): 146.
- [8] Bogale GG, Gelaye KA, Degefie DT, et al. Spatial patterns of childhood diarrhea in Ethiopia: data from Ethiopian demographic and health surveys (2000, 2005, and 2011) [J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 426.
- [9] 李婷, 何金戈, 杨长虹, 等. SaTScan 与 FleXScan 软件空间扫描统计量法在肺结核疫情空间聚集性研究中的应用比较[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 207-212.
- Li T, He JG, Yang CH, et al. Comparison of the application of SaTScan and FleXScan software spatial scanning statistic in the study of spatial clustering of pulmonary tuberculosis epidemics [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2020, 41(2): 207-212.
- [10] 曹骥, 葛莲英, 余家华, 等. 广西肿瘤防控工作发展历程和展望[J]. 中国癌症防治杂志, 2019, 11(4): 271-275.
- Cao J, Ge LY, Yu JH, et al. Development and prospect of Guangxi cancer prevention and control work [J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2019, 11(4): 271-275.
- [11] 胡新梅, 农清清, 赵惠柳, 等. 广西地区原发性肝癌患者血清微囊藻毒素-LR 水平研究[J]. 中国全科医学, 2017, 20(11): 1330-1334.
- Hu XM, Nong QQ, Zhao HL, et al. Study on serum microcystin-LR levels in patients with primary liver cancer in Guangxi[J]. Chinese General Practice, 2017, 20(11): 1330-1334.
- [12] 黄影, 杜进发, 钟革, 等. 1990—2012 年广西乙型病毒性肝炎发病趋势分析[J]. 应用预防医学, 2016, 22(2): 102-105, 109.
- Huang Y, Du JF, Zhong G, et al. Analysis on the incidence trend of viral hepatitis B in Guangxi from 1990 to 2012[J]. Applied Preventive Medicine, 2016, 22(2): 102-105, 109.
- [13] 廖显明, 张陆娟, 王学燕, 等. 2014—2018 年广西乙型肝炎流行特征分析[J]. 应用预防医学, 2020, 26(3): 241-243, 246.
- Liao XM, Zhang LJ, Wang XY, et al. Epidemiological characteristics of hepatitis B in Guangxi from 2014 to 2018[J]. Applied Preventive Medicine, 2020, 26(3): 241-243, 246.
- [14] Qu J, Liu H, Xue J, et al. Analysis of spatial epidemic characteristics of liver cancer in small geographical area [J]. J Cancer Treat Res, 2020, 8(1): 10.
- [15] 肖晓兰, 左传田, 赵杰, 等. 2003—2012 年广西肝癌发病的时空趋势研究[J]. 中国卫生统计, 2015, 32(6): 990-992.
- Xiao XL, Zuo CT, Zhao J, et al. A study on the spatiotemporal trend of liver cancer incidence in Guangxi, 2003-2012[J]. Chinese Journal of Health Statistics, 2015, 32(6): 990-992.
- [16] 黄月莹, 何雨, 黄天壬, 等. 广西乙型肝炎病毒基因型及基因亚型流行病学分布研究 [J]. 广西医科大学学报, 2018, 35(4): 545-550.
- Huang YY, He Y, Huang TR, et al. Epidemiology study on hepatitis b virus genotypes and subgenotypes in Guangxi [J]. Journal of Guangxi Medical University, 2018, 35(4): 545-550.
- [17] 贾雪姣, 农清清, 黄海, 等. 基于 GIS 的广西原发性肝癌患者血清微囊藻毒素-LR 的空间分布[J]. 环境与健康杂志, 2019, 36(4): 335-337.
- Jia XJ, Nong QQ, Hung H, et al. Spatial distribution of microcystin-LR in serum of patients with primary liver cancer in Guangxi based on GIS [J]. Journal of Environment and Health, 2019, 36(4): 335-337.