

Zwężenie zastawki aortalnej – nie tylko leczenie chirurgiczne?

Aortic stenosis – not only surgical treatment?

Anna Borowiec-Kocańda, Rafał Dąbrowski

II Klinika Choroby Wieńcowej, Instytut Kardiologii, Warszawa

Kardiologia Polska 2008; 66: 443–446

Wstęp

Zwężenie zastawki aortalnej (stenoza aortalna) jest obecnie najczęstszą wadą zastawkową w Europie i Ameryce Północnej. Ze względu na przyczynę możemy wyróżnić zwężenie ujścia aorty: degeneracyjne (starcze), reumatyczne lub wrodzone. W ostatnich latach zmieniła się częstość występowania poszczególnych etiologii stenozy aortalnej. Związane jest to nie tylko z mniejszą zachorowalnością na chorobę reumatyczną, ale przede wszystkim z postępującym starzeniem się społeczeństwa. Obecnie u ok. 2–7% populacji >65. roku życia stwierdza się degeneracyjno-zwapnieniową stenozę aortalną, a według prognoz będzie jej coraz więcej w następnych latach [1]. W okresie od 1981 do 1985 r. w Mayo Clinic przeanalizowano chorych poddawanych wymianie zastawki aortalnej. Okazało się, że w ciągu tych 5 lat spadła częstość występowania poreumatycznej wady aortalnej – z 30 do 18%, natomiast wzrosła degeneracyjnej, tzw. starczej stenozy – z 30 do 46%. W *Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease* stenoza aortalna była najczęstszą stwierdzaną wadą zastawkową serca, przy czym u większości (81,9%) chorych była to stenoza degeneracyjno-zwapnieniowa, a tylko u 11,2% chorych występowała wada poreumatyczna [1].

Zwężenie zastawki aortalnej jest chorobą przewlekłą, postępującą i przez długi okres bezobjawową. Po wystąpieniu objawów (omdlenia, dławica piersiowa, objawy niewydolności serca) przeciętne przeżycie wynosi 2–3 lata i towarzyszy mu wysokie ryzyko nagłego zgonu [2].

Rozwój postaci degeneracyjno-zwapnieniowej stenozy aortalnej wiąże się z powstawaniem i kumulacją zwapnień w tkance zastawki. Do niedawna powstawanie tych zwapnień uważane było za proces degeneracyjny, łagodny, związany z wiekiem i niemający istotnego znaczenia kliniczne-

go. W ostatnich latach ukazało się wiele doniesień, które temu przeczą. Obecnie uznaje się, że kumulacja zwapnień w tkance zastawki jest procesem aktywnym, zapalnym i pogarszającym rokowanie chorych. Co więcej, istnieją poważne przesłanki świadczące o tym, że w procesy rozwoju miażdżycy i zwapnień zaangażowane są podobne mechanizmy immunologiczne i zapalne.

Czynniki ryzyka szybszej progresji stenozy

W prospektywnej obserwacji przeprowadzonej w Vienna General Hospital u 128 bezobjawowych chorych z dużą stenozą aortalną (z maksymalną prędkością przez zastawkę >4 m/s) oceniano przeżycie bez zdarzeń, takich jak wymiana zastawki z powodu wystąpienia objawów lub zgon. Po roku obserwacji przeżycie bez zdarzeń wynosiło 67%, po dwóch – 56%, a po czterech – tylko 33%. Okazało się, że jedynym niezależnym czynnikiem rokowniczym było nasilenie zwapnień. U chorych bez lub z niewielkimi zwapnieniami przeżycie po roku wynosiło 92%, a po czterech latach 75%, gdy tymczasem u chorych z umiarkowanymi lub dużymi zwapnieniami było to odpowiednio 60 i 20% [3].

Rosenhek i wsp. w trakcie obserwacji 176 chorych z łagodną i umiarkowaną stenozą, z maksymalną prędkością przez zastawkę aortalną 2,5–3,9 m/s, stwierdzili szybszą progresję zwężenia u osób z chorobą wieńcową, z szybszym przyrostem maksymalnej prędkości przez zastawkę oraz z umiarkowanymi i dużymi zwapnieniami [4].

Przytoczone wyżej oraz inne badania obserwacyjne świadczą o tym, że nie u wszystkich chorych postęp zwężenia zastawki aortalnej jest jednakowo szybki. W najnowszych zaleceniach Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dotyczących zastawkowych wad serca do czynników przyspieszających przebieg choroby zalicza się: starszy wiek,

Adres do korespondencji:

lek. med. Anna Borowiec-Kocańda, II Klinika Choroby Wieńcowej, Instytut Kardiologii, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa, tel.: +48 22 343 40 50, faks: +48 22 844 95 10, e-mail: anaborowiec@hotmail.com

Praca wpłynęła: 04.11.2007. Zaakceptowana do druku: 14.11.2007.

obecność czynników ryzyka miażdżycy, hipercholesterolemie, niewydolność nerek, hiperkalcemię, chorobę Pageta, nadczynność przytarczyc i wystąpienie objawów w trakcie próby wysiłkowej. W badaniu echokardiograficznym elementami obciążającymi są: obecność zwapnień, wzrost gradientu w trakcie wysiłku oraz ponadprzeciętny ($\geq 0,3$ m/s przez rok) przyrost maksymalnej prędkości przez zastawkę [5].

Patogeneza

Obecnie mamy coraz więcej danych świadczących o tym, że powstawanie zwapnień w tkance zastawki jest procesem aktywnym. W histologicznej ocenie wczesnych zmian w płatkach zastawki aortalnej stwierdzono nacieki komórek zapalnych, głównie makrofagów i limfocytów T, odkładanie się lipidów (apolipoproteiny B, A i E) oraz włókien kolagenowych i elastynowych [6]. W zaawansowanych zwapnieniach w płatkach zastawek wykryto depozyty tkanki kościopodobnej oraz miejscową zwiększoną ekspresję białek odpowiedzialnych za stymulację osteoblastów odpowiedzialnych za procesy kościotworzenia [7]. Oceniając za pomocą metod histologicznych wpływ cholesterolu na zastawki, stwierdzono w ich tkance obecność komórek piankowatych, proliferację miofibroblastów oraz ekspresję białek macierzy kostnej [8].

Zwężenie zastawki aortalnej a miażdżycy

Na podstawie badań eksperymentalnych oraz danych klinicznych stwierdza się obecnie wiele podobieństw pomiędzy narastaniem zwapnień w zastawce aortalnej a procesami miażdżycowymi. Z obserwacji wynika, że u ok. 40% chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej stwierdzane są również zmiany miażdżycowe w tętnicach wieńcowych [1]. Badanie *Cardiovascular Health Study* wykazało, że czynniki ryzyka miażdżycy, takie jak: wiek, płeć męska, palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze w wywiadzie, podwyższony poziom lipoproteiny A i cholesterolu LDL (LDL-C), są zbliżone również w wypadku rozwoju zwapnień w zastawce [9]. Do innych znanych obecnie podobieństw obu chorób zalicza się: dysfunkcję śródbłonna płatków zastawki, zwiększoną aktywność układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA), zwiększoną produkcję interleukiny 1 (IL-1) oraz tkankowego czynnika wzrostu beta (TGF- β), a także zwiększoną aktywność metaloproteinaz [10]. O tym, że procesy zapalne biorą udział w narastaniu zwapnień w zastawce aortalnej, może świadczyć podwyższony poziom markerów stanu zapalnego u osób z szybszą progresją choroby – stężenie białka C-reaktywnego >3 mg/l jest niezależnie związane z szybszą progresją zwężenia [11]. U osób z chorobą wieńcową obecność zespołu metabolicznego jest dodatkowym czynnikiem pogarszającym rokowanie. W badaniu przeprowadzonym przez Briand i wsp. u chorych z umiarkowaną lub dużą stenozą aortalną zaobserwowano dwukrotnie szybsze narastanie zwężenia zastawki aortalnej oraz krótszy czas przeżycia bez takich zdarzeń, jak wymiana zastawki lub zgon, u osób ze współistniejącym zespołem metabolicznym [12]. Z kolei Pohle i wsp. stwierdzili pozytywną zależność pomię-

dzy podwyższonym poziomem LDL-C a progresją zwapnień, zarówno w zastawce aortalnej, jak i w tętnicach wieńcowych, ocenianych w tomografii wiązki elektronowej, co może świadczyć o wspólnej etiologii obu rodzajów zwapnień [13]. Istnieją jednak także istotne różnice w przebiegu i patofizjologii obu chorób, o czym najlepiej może świadczyć fakt, że u większości osób z chorobą wieńcową nie występuje stenoza aortalna oraz że w przebiegu choroby wieńcowej może dochodzić do pęknięcia lub erozji blaszki miażdżycowej i w konsekwencji do ostrego zespołu wieńcowego, czego nie obserwujemy w zwężeniu zastawki aortalnej.

Ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych

Do niedawna uważano, że tylko chorzy z dużą i objawową stenozą należą do grupy podwyższonego ryzyka wystąpienia zdarzeń niepożądanych. Obecnie mamy dowody, że również łagodna i umiarkowana stenoza jest związana z wyższym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych. Rosenhek i wsp. wykazali, że chorzy z łagodną i umiarkowaną stenozą aortalną w obserwacji średnio 4-letniej mieli 1,8 razy wyższe ryzyko zgonu w porównaniu ze zdrową populacją [4]. Co więcej, chorzy ze zwapnieniami w zastawce, nawet bez istotnego gradientu, mieli w obserwacji prowadzonej przez Otto i wsp. o ok. 50% wyższe ryzyko zawału serca oraz zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych [14]. Z kolei badacze z *Helsinki Aging Study* zaobserwowali u chorych z umiarkowaną i dużą stenozą aortalną zwiększone ryzyko zgonów ogółem oraz zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych [15].

Wartość predykcyjną w ocenie ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych ze stenozą aortalną mogą mieć peptydy natriuretyczne. Peptydy natriuretyczne BNP (*B-type natriuretic peptide*) i N-końcowy fragment proBNP (NT-proBNP) są neurohormonami wydzielanymi przez mięsień komór serca w odpowiedzi na wzrost naprężenia ścian. Weber i wsp. w badaniu opublikowanym w 2006 r. wykazali, że u chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej stężenie tych neuropeptydów koreluje ze stopniem zaawansowania wady oraz klasą czynnościową niewydolności serca wg NYHA [16]. W innych badaniach stwierdzono, że ich stężenia u objawowych chorych ze stenozą aortalną są wyższe niż u chorych bezobjawowych oraz że ich poziom maleje po wymianie zastawki aortalnej. O tym, że mają one wartość predykcyjną, świadczy badanie przeprowadzone przez Bergler-Klein i wsp. Przebadali oni 130 bezobjawowych chorych z dużą stenozą (średni gradient ok. 60 mmHg). Po roku obserwacji przeżycie bez wystąpienia objawów było wyższe w grupie z niższym wyjściowym NT-proBNP (<80 pmol/l): 69 vs 18%, $p < 0,001$ [17].

Sposoby hamowania progresji stenozy aortalnej

Obecnie jedyną uznaną i szeroko dostępną metodą leczenia stenozy aortalnej jest chirurgiczna wymiana zastawki zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego [5]. Nie ma skutecznego leczenia farma-

kologicznego zwalniającego progresję choroby i mogącego w przyszłości zmniejszyć liczbę wykonywanych zabiegów chirurgicznych. Uwzględniając podobne mechanizmy biorące udział w rozwoju miażdżycy tętnic wieńcowych oraz narastaniu zwapnień i stenozy aortalnej, można przypuszczać, że leki stosowane obecnie w leczeniu choroby wieńcowej mogą się również okazać skuteczne w hamowaniu progresji stenozy aortalnej.

Statyny

Na podstawie licznych eksperymentalnych badań oceniających wpływ cholesterolu na zastawkę aortalną oraz rolę inhibitorów reduktazy HMG CoA w zahamowaniu tych procesów, można wysunąć hipotezę, że jedną z ważniejszych grup leków, które mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w hamowaniu progresji stenozy aortalnej, są statyny. Dodatkowym argumentem są doniesienia świadczące o ich wpływie na zmniejszenie objętości zwapnień w obrębie blaszki miażdżycowej oraz o ograniczaniu progresji zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych [18, 19].

W przeprowadzonych badaniach obserwacyjnych stwierdzono szybszą progresję stenozy u chorych z hipercholesterolemią, szczególnie u tych z poziomem LDL-C >130 mg/dl [13]. Zaobserwowano również, że terapia statynami może zwolnić progresję narastania zwapnień, nawet niezależnie od efektu hipolipemizującego. Pewne znaczenie mogą tu mieć plejotropowe działania statyn [20–22]. W eksperymentalnym badaniu na modelu zwierzęcym przeprowadzonym przez Rajamannana i wsp. pokazano, że leczenie atorwastatyną powoduje hamowanie progresji zwapnień w zastawce aortalnej [8]. Novaro i wsp. przeprowadzili retrospektywne badanie u 174 chorych z łagodną i umiarkowaną stenozą aortalną, z których 51 (33%) otrzymywało statynę. Grupa leczona statyną była starsza, częściej miała nadciśnienie tętnicze, cukrzycę i chorobę wieńcową. Po średnio 21 mies. obserwacji stwierdzono wolniejszą progresję zwężenia zastawki ocenianą w badaniu echokardiograficznym u chorych leczonych statyną [21]. Z kolei Rosenhek i wsp. przeprowadzili badanie na 211 chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej, z maksymalną prędkością przez zastawkę >2,5 m/s, u których w latach 2000–2002 wykonano dwukrotnie badanie echokardiograficzne w odstępie przynajmniej pół roku. W grupie tej 102 osoby były leczone inhibitorami konwertazy angiotensyny (ACE-I), 50 otrzymywało statynę, a pozostałych 32 chorych oba leki. U osób otrzymujących statynę stwierdzono wolniejszą progresję zwężenia zastawki aortalnej. Efekt ten obserwowano u chorych zarówno z łagodną, jak i z umiarkowaną lub dużą stenozą aortalną. Natomiast ACE-I nie spowolniły postępu choroby oraz nie nasiliły korzystnego efektu leczenia statyną w grupie osób leczonych zarówno statyną, jak i ACE-I. Co ciekawe, nie obserwowano zależności pomiędzy poziomem cholesterolu, a progresją zwężenia zarówno w grupie leczonej statyną, jak i nieprzyjmującej leku hipolipemizującego [22].

Dotychczas przeprowadzono kilka prospektywnych, badań z randomizacją oceniających wpływ statyn na przebieg choroby. Badanie SALTIRE to pierwsze badanie z randomizacją dotyczące leczenia statynami chorych ze zwapnieniami w tkance zastawki aortalnej. Badanie zostało przeprowadzone na osobach z różnym stopniem zwężenia zastawki aortalnej, ale z maksymalną prędkością przez zastawkę >2,5 m/s. Chorzy otrzymywali atorwastatynę w dawce 80 mg lub placebo. Po średnio 25 mies. obserwacji stwierdzono, że pomimo istotnego obniżenia wartości cholesterolu w grupie leczonej statyną, nie zaobserwowano znaczących różnic w progresji zwapnień i przyroście prędkości maksymalnej pomiędzy grupami. Badacze w dyskusji sugerują, że brak zahamowania progresji choroby za pomocą dużej dawki statyny mógł być spowodowany małą liczebnością grupy badanej (155 chorych) oraz jej dużą niehomogennością, ponieważ włączono do badania zarówno chorych z łagodną stenozą i niewielkimi zwapnieniami, jak i z dużą stenozą i masywnymi zwapnieniami. Sugerowano, że podanie statyny na wcześniejszym etapie rozwoju choroby może być bardziej korzystne oraz że u chorych z masywnymi zwapnieniami i dużą stenozą aortalną niewiele można już uzyskać za pomocą leczenia farmakologicznego [23].

Kolejnym prospektywnym badaniem dotyczącym tego tematu było opublikowane w 2007 r. badanie RAAVE. Włączono do niego 121 chorych z umiarkowaną lub dużą stenozą aortalną. Pierwsza grupa chorych (61 osób) z podwyższonym poziomem LDL-C otrzymywała rosuvastatynę w dawce 20 mg, a druga grupa chorych (60 osób) z prawidłowym poziomem LDL-C nie otrzymywała statyny. Po średnio 18 mies. obserwacji stwierdzono wolniejszą progresję stenozy, ocenianą jako przyrost prędkości przez zastawkę oraz zmniejszenie efektywnego pola ujścia w grupie leczonej statyną [24].

Na podstawie dostępnych obecnie badań nie można jednoznacznie zalecać lub nie leczenia statynami chorych ze stenozą aortalną, chyba że stwierdzamy u nich choroby towarzyszące wymagające leczenia statynami według aktualnych zaleceń. W niedługim czasie planowane są publikacje wyników kolejnych prospektywnych badań dotyczących tego tematu. Badania ASTRONOMER, SEAS i STOP-AS być może ostatecznie określą miejsce statyn w leczeniu zwężenia zastawki aortalnej.

Leki hamujące układ RAA

Kolejną ważną grupą leków wykorzystywaną w leczeniu osób z chorobą wieńcową są ACE-I. Istnieje kilka teoretycznych przesłanek, które mogą sugerować zastosowanie ACE-I u chorych ze stenozą aortalną. Pierwszą z nich jest fakt, że stenoza aortalna prowadzi z czasem do przerostu mięśnia serca i w konsekwencji do jego niewydolności. W badaniach eksperymentalnych zaobserwowano wzmożoną ekspresję ACE i angiotensyny II w tkance zastawek [25, 26]. Nieliczne przeprowadzone badania oceniające wpływ tej grupy leków na przebieg choroby przynoszą jed-

nak niespójne dane. W badaniu przeprowadzonym przez Rosenhek i wsp. ACE-I nie miały wpływu, w przeciwieństwie do statyn, na zwolnienie progresji choroby [22]. Z kolei O'Brien i wsp. pokazali, że ACE-I spowalniają progresję zwądnienia ocenianą w tomografii wiązki elektronowej [25]. Istnieje więc potrzeba przeprowadzenia w przyszłości badań z randomizacją dotyczących tego zagadnienia.

Podsumowanie

Poglądy na temat patofizjologii i znaczenia klinicznego stenozы aortalnej bardzo się zmieniły w ostatnich latach. Możliwe, że już niedługo spowoduje to konkretne zmiany w zalecanym leczeniu farmakologicznym, tak aby przestało być ono tylko leczeniem objawowym zwężenia zastawki. Idealnym rozwiązaniem w świetle narastającej z roku na rok liczby wykonywanych zabiegów chirurgicznej wymiany zastawki byłoby znalezienie niezabiegowego leczenia spowalniającego proces chorobowy i wydłużającego czas do ewentualnej operacji. Kierunek obecnie przeprowadzanych badań w tej dziedzinie daje nadzieję, że cel ten może zostać osiągnięty.

Piśmiennictwo

1. Iung B, Baron G, Butchart EG, et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J* 2003; 24: 1231-43.
2. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, et al. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med* 1999; 341: 142-7.
3. Rosenhek R, Binder T, Parenta G, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 611-7.
4. Rosenhek R, Klaar U, Schemper C, et al. Mild and moderate aortic stenosis. Natural history and risk stratification by echocardiography. *Eur Heart J* 2004; 25: 199-205.
5. Vaharian A, Baumgartner H, Bax J, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007; 28: 230-68.
6. O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, et al. Apolipoproteins B, (a), and E accumulate in the morphologically early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 523-32.
7. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, et al. Human aortic valve calcification is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation* 2003; 107: 2181-4.
8. Rajamannan NM, Subramaniam M, Springett M, et al. Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced cellular proliferation and bone matrix production in the rabbit aortic valve. *Circulation* 2002; 105: 2260-5.
9. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 630-4.
10. Poggianti E, Venneri L, Chubuchny V, et al. Aortic Valve Sclerosis Is Associated With Systemic Endothelial Dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 136-41.
11. Sánchez PL, Santos JL, Kaski JC, et al. Relation of circulating C-reactive protein to progression of aortic valve stenosis. *Am J Cardiol* 2006; 97: 90-3.
12. Briand M, Lemieux I, Dumesnil JG, et al. Metabolic Syndrome Negatively Influences Disease Progression and Prognosis in Aortic Stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 2229-36.
13. Pohle K, Mäffert R, Ropers D, et al. Progression of Aortic Valve Calcification Association With Coronary Atherosclerosis and Cardiovascular Risk Factors. *Circulation* 2001; 104: 1927-32.
14. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, et al. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med* 1999; 341: 142-7.
15. Iivainen AM, Lindroos M, Tilvis R, et al. Natural history of aortic valve stenosis of varying severity in the elderly. *Am J Cardiol* 1996; 78: 97-101.
16. Weber M, Hausen M, Arnold R, et al. Prognostic value of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for conservatively and surgically treated patients with aortic valve stenosis. *Heart* 2006; 92: 1639-44.
17. Bergler-Klein J, Klaar U, Heger M, et al. Natriuretic peptides predict symptom-free survival and postoperative outcome in severe aortic stenosis. *Circulation* 2004; 109: 2302-8.
18. Callister TQ, Raggi P, Coil B, et al. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med* 1998; 339: 1972-8.
19. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA* 2006; 295: 1556-65.
20. Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, et al. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium. *Lancet* 2002; 359: 1125-6.
21. Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, et al. Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* 2001; 104: 2205-9.
22. Rosenhek R, Rader F, Loho N, et al. Statins but not angiotensin-converting-enzyme inhibitors delay progression of aortic stenosis. *Circulation* 2004; 110: 1291-5.
23. Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, et al. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med* 2005; 352: 2389-97.
24. Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL, et al. Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 554-61.
25. O'Brien KD, Probstfield JL, Caulfield MT, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and change in aortic valve calcium. *Arch Intern Med* 2005; 165: 858-62.
26. Helse S, Lindstedt KA, Laine M, et al. Induction of local angiotensin II-producing systems in stenotic aortic valves. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1859-66.