BRIEF REPORT

Serum Levels of Selenium in Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis

Fatemeh Jafari[1],
Atena Shirzad[2],
Hadi Parsian[3],
Ali Bijani[4],
Abbas Mosapour[5]

[1] Dentistry Student, Student Research Committee, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[2] Associate Professor, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, Oral Health Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[3] Professor, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[4] Assistant Professor, Social Determinants of Health Research Centre, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[5] PhD in Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received December 13, 2022 ; Accepted July 12, 2023)

Abstract

Background and purpose: Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is one of the most common recurrent ulcers in the oral mucosa and its etiology is not yet elucidated, but the immune system dysfunction and oxidative stress may play a role in the pathogenesis of RAS. Selenium has regulatory role in the immune system and oxidative stress. This study aims to compare serum levels of selenium between patients with RAS and healthy controls.

Materials and methods: This case-control study was performed in 50 patients with minor RAS and 53 healthy controls that were matched for age and sex. Blood samples were obtained from all participants and selenium serum levels were measured. Data were analyzed in SPSS V17 applying independent sample t-test and Chi-square.

Results: The average age of the controls and case group was 34.77±8.21 and 37.68±9.69 years, respectively and women included 67.9% and 74%, respectively .The mean serum level of selenium in the control group (49.16±17.03 µg/L) was significantly higher than that of the case group (31.09±17.74µg/L) ($P<0.001$).

Conclusion: Serum levels of selenium are lower in patients with RAS than healthy controls.

Keywords: recurrent aphthous stomatitis, selenium, immune system, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33(224): 138-143 (Persian).

Corresponding Author: Atena Shirzad - Oral Health Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. (E-mail: ats60dent@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۲۴ شهریور سال ۱۴۰۲ (۱۴۳-۱۳۸)

سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی

فاطمه جعفری[۱]
آتنا شیرزاد[۲]
هادی پارسیان[۳]
علی بیژنی[۴]
عباس موسی پور[۵]

چکیده

سابقه و هدف: آفت راجعه دهانی یکی از شایع‌ترین زخم‌های عودکننده در مخاط دهان می‌باشد که پاتوژنز آن به‌طور دقیق مشخص نشده است. به نظر می‌رسد اختلال در پاسخ ایمنی و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در این بیماری دارد. با توجه به این‌که سلنیوم نقش تنظیم‌کننده در سیستم ایمنی و استرس اکسیداتیو دارد، هدف ازاین مطالعه بررسی سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به استوماتیت آفتی راجعه و مقایسه آن با افراد سالم می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی در دانشکده دندانپزشکی بابل انجام شد. ۵۰ نفر در گروه مبتلایان به آفت راجعه دهانی قرار گرفتند و ۵۳ نفر فرد سالم که از نظر سن و جنس با گروه مورد همسان شدند، برای گروه کنترل انتخاب شدند. نمونه خون از هر دو گروه گرفته شد. سطح سرمی سلنیوم اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ۱۷ و آزمون‌های آماری Independent Sample t Test و chi-square Tests مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین سنی گروه شاهد و مبتلا به آفت به ترتیب ۸/۲۱±۳۴/۷۷ و ۹/۶۹±۳۷/۶۸ سال بود. زنان در گروه کنترل و مبتلا به آفت به ترتیب ۶۷/۹ و ۷۴ درصد افراد را تشکیل دادند. میانگین سطح سرمی سلنیوم در گروه کنترل (۴۹/۱۶±۱۷/۰۳µg/L) نسبت به گروه مبتلا به آفت (۳۱/۰۹±۱۷/۷۴ µg/L)، به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود(P<۰/۰۰۱).

استنتاج: بر اساس مطالعه حاضر سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی کم‌تر از افراد سالم می‌باشد.

واژه های کلیدی: آفت راجعه دهانی، سلنیوم، سیستم ایمنی، استرس اکسیداتیو

مقدمه

آفت راجعه دهانی(Recurrent Aphthous stomatitis: RAS) یکی از شایع‌ترین ضایعات زخمی در مخاط دهان می‌باشد. حدود ۵۰-۵ درصد جمعیت دنیا به این بیماری مبتلا می‌شوند. ظهور زخم‌های عودکننده دردناک منفرد یا متعدد در این ضایعه التهابی مزمن سبب اختلال عملکرد دهان می‌شود(۲،۱). آفت راجعه دهانی یک بیماری مولتی فاکتوریال می‌باشد که اتیولوژی و پاتوژنز آن تاکنون مورد بحث است. اختلالات ایمونولوژیک و استرس اکسیداتیو از جمله عوامل اتیولوژی آفت می‌باشند که مطالعات گسترده در مورد آن‌ها انجام شده است(۴،۳).

نقش هر دو سیستم ایمنی هومورال وسلولار در پاتوژنز آفت به اثبات رسیده است. سلول‌های Th1 با ترشح

مولف مسئول: آتنا شیرزاد- بابل: دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات سلامت و بهداشت دهان E-mail: ats60dent@gmail.com
۱. دانشجوی دندانپزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۲. دانشیار، گروه بیماری های دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات سلامت و بهداشت دهان ، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۳. استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۴. استادیار، مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۵. دکترای بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۱/۹/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۱/۱۱/۱ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۴/۲۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]

سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند TNFα,IFNγ,IL2 نقش مهمی در ایجاد زخم‌های آفتی ایفا می‌کنند(۶،۵). محققین معتقدند نوتروفیل‌ها مسئول ایجاد کمپلکس آنتی ژن- آنتی‌بادی در دیواره عروقی بوده که موجب تخریب اپی تلیوم پوشاننده هستند(۷). از سوی دیگر مطالعات نشان داده‌اند که در آفت، استرس اکسیداتیو سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد میگردد. بدین ترتیب رادیکال‌های آزاد می‌توانند سبب اختلال در سیستم ایمنی گردد(۸،۳). سیستم آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند گلوتاتیون پروکسیداز و سوپراکسید دسموتاز در آفت کاهش و پروکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد(۹،۴).

سلنیوم(Se) یک ماده معدنی کمیاب مهم و ضروری بدن می‌باشد که از طریق ترکیب با سلنوپروتئین‌ها در تنظیم سیستم ایمنی و کاهش استرس اکسیداتیو نقش مهمی ایفا می‌کند. در مطالعات مختلف ارتباط سلنیوم با بیماری‌های اتوایمیون از جمله سندرم بهجت، آرتریت روماتوئید، بیماری پریودنتال، لیکن پلان دهانی و سرطان دهان مورد بررسی قرار گرفته است(۱۳-۱۰).

مطالعات نشان داده‌اند سلنیوم در تنظیم سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش دارد(۱۶-۱۴)، از سوی دیگر این عنصر، به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز وجود دارد(۱۸،۱۷). به هر حال نقش پاتوژنز سلنیوم در آفت تا کنون به‌طور دقیق مشخص نشده است و مطالعات در این زمینه بسیارکم می‌باشد.

Arikan در سال ۲۰۰۹ و Ozturk در سال ۲۰۱۳ به ارتباط مثبت بین میزان سطح سرمی سلنیوم و آفت دست یافتند(۱۹،۹). بنابراین مطالعه حاضر با هدفبررسی سطح سرمی سلنیوم در مبتلایان به آفت راجعه دهانی و مقایسه آن با افراد سالم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی (کد اخلاق: IR.MUBABOL.HRI.REC.1400.209) افراد مورد مطالعه از مراجعه‌کنندگان به درمانگاه دانشکده دندانپزشکی بابل انتخاب شدند. هدف مطالعه برای همه افراد توضیح داده شده و از آن‌ها رضایت نامه کتبی اخذ شد. حجم نمونه بر اساس فرمول زیر (مقایسه میانگین در دو جامعه مستقل) با سطح اطمینان ۹۵ درصد و توان ۸۰ درصد و فرض σ1=σ2=۸ برای یافتن ۵ واحد اختلاف در میانگین سطح سلنیوم در دو گروه، تعداد ۵۰ نمونه برای هر دو گروه بر آورد شد. که ۵۳ نفر به عنوان گروه کنترل و ۵۰ نفر به عنوان بیماران مبتلا به آفت دهانی راجعه انتخاب شدند.

$$n = \frac{(S_1{}^2 + S_2{}^2)\left(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_\beta\right)^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

معیار ورود به گروه مورد، شامل افراد ۴۰-۱۵ ساله مبتلا به آفت راجعه دهانی بود. روش تشخیص آفت براساس نمای بالینی با حداقل سه دوره زخم آفتی مینور (زخم آفتی با اندازه کم‌تر از ۱ سانتی‌متر) در سال بود. معیار ورود به گروه کنترل، شامل افرادی که لحاظ سیستمیک سالم بودند و در طول زندگی دچار زخم‌های راجعه آفتی نشده بودند و از نظر سن و جنس با گروه مورد همسان‌سازی شدند.

معیار خروج از مطالعه گروه مورد و شاهد وجود هرگونه بیماری سیستمیک شناخته شده (مانند بهجت، بیماری التهابی روده)، سوءتغذیه، حضور ضایعات داخل دهانی غیر از آفت دهانی راجعه، مصرف مکمل سلنیوم طی ۶ ماه گذشته، بارداری و شیردهی و استعمال سیگار و الکل بود(۱۹). اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل سن ، جنس و تعداد دفعات ابتلا به آفت در سال در چک لیست مربوطه ثبت شد. سپس بیماران مبتلا به آفت از لحاظ حضور زخم آفتی توسط متخصص بیماری‌های دهان معاینه شدند. خونگیری از افراد هر دو گروه توسط یک کارشناس علوم آزمایشگاهی (۵ ml نمونه خون غیرناشتا از هر فرد) در آزمایشگاه بیمارستان یحیی‌نژاد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]

بابل انجام شد. سپس سرم از خون جدا شد و به وسیله دستگاه (MPW-352r- لهستان-۲۰۱۴) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ RPM سانتریفیوژ شد و در دمای ۸۰- ^{oC} تا زمان آنالیز نگهداری شد. پس از به حد نصاب رسیدن تعداد نمونه‌ها، اندازه‌گیری سلنیوم سرم توسط دستگاه جذب اتمی (PG 990 Aas- انگلستان- ۲۰۱۲) با استفاده از هالوکاتد اختصاصی آن انجام شد. در نهایت اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و با تست‌های آماری Independent Sample Test و chi-square Tests مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. P<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها و بحث

در مطالعه حاضر در مجموع تعداد ۱۰۳ نفر شامل ۵۳ نفر به عنوان گروه کنترل و ۵۰ نفر به عنوان بیماران مبتلا به آفت بررسی شدند. از مجموع ۱۰۳ نفر ۳۰ نفر مرد (۲۹/۱ درصد) و ۷۳ نفر زن(۷۰/۹ درصد) بودند. میانگین سنی افراد مورد بررسی ۹/۰۳±۳۶/۱۸ سال بود. براساس جدول شماره ۱، توزیع فراوانی جنس و میانگین سنی افراد در دو گروه آفت و کنترل با یکدیگر تفاوت معناداری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول شماره ۱: مشخصات دموگرافیک در افراد گروه مبتلا به آفت و گروه شاهد

پارامترها / گروه مورد بررسی		کنترل	آفت	سطح معنی داری
جنسیت، تعداد (درصد)	مذکر	۱۷ (۳۲/۱)	۱۳ (۲۶)	۰/۴۹
	مونث	۳۶ (۶۷/۹)	۳۷ (۷۴)	
سن (سال)، (انحراف معیار ± میانگین)		۸/۲۱ ±۳۴/۷۷	۹/۶۹± ۳۷/۶۸	۰/۱

میانگین سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به آفت ۱۷/۷۴±۳۱/۰۹ µg/L بود که از میانگین سطح سرمی سلنیوم در افراد سالم (۱۷/۰۳±۴۹/۱۶ µg/L) به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود (P<۰/۰۰۱).

میانگین سطح سرمی سلنیوم در مردان (۲۰/۲۳±۴۲/۰۱µg/L) در مقایسه با زنان (۱۹/۳۴±۳۹/۷۲ µg/L) و تفاوت معنی‌داری نداشت (P= ۰/۵). میانگین سنی مردان شرکت‌کننده در مطالعه (۸/۵۱±۳۴/۱) سال در مقایسه با زنان (۹/۱۶±۳۷/۰۴) سال و تفاوت معنی‌داری نداشت(P= ۰/۶۲).

در این مطالعه سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی و افراد گروه کنترل بررسی و مقایسه شد. نتایج نشان داد که سطح سرمی سلنیوم در بیماران مبتلا به آفت کمتر از افراد سالم بود.

مطالعات در زمینه ارتباط میان استوماتیت آفتی راجعه و سلنیوم سرم بسیار اندک می‌باشد. مطالعه Ozturk در سال ۲۰۱۳ و Arikan در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که میزان سرمی سلنیوم و آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون پروکسیداز در این بیماری کاهش می‌یابد. این دو مطالعه با مطالعه ما همخوانی داشت(۱۹،۹).

آن‌ها در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که سلنیوم یک جزء ضروری برای آنتی‌اکسیدان آنزیمی گلوتاتیون پروکسیداز است و کمبود سلنیوم می‌تواند بر فعالیت این آنتی‌اکسیدان تاثیرگذار باشد، در نتیجه گلوتاتیون پروکسیداز نمی‌تواند به اندازه کافی در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن مقابله کند. بدین‌ترتیب افزایش استرس اکسیداتیو و عدم توازن اکسیدان/ آنتی‌اکسیدان بدن در واکنش‌های التهابی آفت دهانی روی می‌دهد. عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان موجب می‌شود رادیکال‌های آزاد به سلول‌های سالم آسیب برسانند(۲۰).

از سوی دیگر نتیجه مطالعه حاضر نیز همراستا با اثرات ضدالتهابی سلنیوم می‌باشد. براساس مطالعات، سلنیوم در تنظیم سیستم ایمنی همورال و سلولار بویژه در عملکرد لکوسیت‌های PMN مانند نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها و ترشح سیتوکاین‌های پیش التهابی نقش اساسی دارد(۲۱) وکمبود سطح سرمی سلنیوم به‌طور معکوس در ارتباط با تخریب ساختار و التهاب بافت ارتباط دارد(۱۸).

ما در این مطالعه، برای اینکه تاثیر عوامل مخدوش کننده سن و جنس را به حداقل برسانیم، فاکتورهای سن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]

و جنس در دو گروه آفت و افراد سالم را همسان کردیم تا به نتیجه قابل اعتمادتری دست پیدا کنیم.

در مطالعه حاضر سطح سرمی سلنیوم در افراد دو گروه آفت و سالم به‌ترتیب ۱۷/۷۴±۳۱/۰۹ µg/L و ۱۷/۰۳±۴۹/۱۶ µg/l بود که هر دو کم‌تر از محدوده نرمال سلنیوم سرم (۶۳-۱۶۰ µg/L) می‌باشد. این در حالی است که در مطالعات Ozturk و Arikan میزان سرمی سلنیوم در افراد سالم بسیار بالاتر از مطالعه ما گزارش شده است(۱۹،۹). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر اکثریت افراد هر دو گروه از کمبود سلنیوم رنج می‌برند. این ممکن است به دلیل تفاوت نژاد و نوع رژیم غذایی مصرفی در این افراد باشد. با این حال در گروه سالم تعداد افرادی که در رنج نرمال سلنیوم بودند از گروه آفت بیش‌تر بودند.

ما در این مطالعه تنها به ارتباط سلنیوم با آفت راجعه دهانی پرداختیم و این از محدودیت‌های این مطالعه می‌باشد. هم‌چنین عوامل ژنتیکی، رژیم غذایی و سطح استرس و اضطراب افراد بررسی نشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و سایر عناصر کمیاب مانند روی و مس نیز بررسی گردد، هم‌چنین میزان استرس و نوع رژیم غذایی افراد نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. به علاوه با انجام مطالعات کارآزمایی بالینی بتوان تاثیر این عناصر کمیاب را در بهبود آفت بررسی کرد.

سطح سرمی سلنیم در بیماران مبتلا به آفت به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد سالم بود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه فاطمه جعفری دانشجوی رشته دندانپزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۱۴۰۰۱۳۳۳۲ دانشگاه علوم پزشکی بابل می‌باشد. بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل به دلیل حمایت مادی تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Natah S, Konttinen YT, Enattah NS, Ashammakhi N, Sharkey K, Häyrinen-Immonen R. Recurrent aphthous ulcers today: a review of the growing knowledge. Int J Oral Maxillofac Surg 2004; 33(3): 221-234.
2. Rivera C. Essentials of recurrent aphthous stomatitis. Biomed Rep 2019; 11(2): 47-50.
3. Ślebioda Z, Szponar E, Kowalska A. Etiopathogenesis of recurrent aphthous stomatitis and the role of immunologic aspects: literature review. Arch Immunol Ther Exp 2014; 62(3): 205-215.
4. Zhang Z, Li S, Fang H. Enzymatic antioxidants status in patients with recurrent aphthous stomatitis. Journal of Oral Pathology & Medicine 2017; 46(9): 817-820.
5. Lewkowicz N, Kur B, Kurnatowska A, Tchorzewski H, Lewkowicz P. Expression of Th1/Th2/Th3/Th17-related genes in recurrent aphthous ulcers. Arch Immunol Ther Exp 2011; 59(5): 399-406.
6. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. Dent Clin North Am 2014; 58(2): 281-297.
7. Khabbazi A ,Ghorbanihaghjo A, Fanood F, Kolahi S, Hajialiloo M, Rashtchizadeh N. A comparative study of vitamin D serum levels in patients with recurrent aphthous stomatitis. The Egyptian Rheumatologist 2015; 37(3): 133-137.
8. Saxena S. Assessment of plasma and salivary antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. Revista Sul-Brasileira de Odontologia 2011; 8(3): 261-265.
9. Ozturk P, Kurutas EB, Ataseven A. Copper/zinc and copper/selenium ratios, and

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]

oxidative stress as biochemical markers in recurrent aphthous stomatitis. J Trace Elem Med Biol 2013; 27(4): 312-316.

10. Thomas B, Ramesh A, Suresh S, Prasad BR. A comparative evaluation of antioxidant enzymes and selenium in the serum of periodontitis patients with diabetes mellitus type 2. Contemp Clin Dent 2013; 4(2): 176-180.
11. Delilbaşi E, Turan B, Yücel E, Şaşmaz R, Işimer A, Sayal A. Selenium and Behçet's disease. Biol Trace Elem Res 1991; 28(1): 21-25.
12. Bao X, Yan L, Lin J, Chen Q, Chen L, Zhuang Z, et al. Selenoprotein genetic variants may modify the association between serum selenium and oral cancer risk. Oral Dis 2020; 26(6): 1141-148.
13. Qataya PO, Elsayed NM, Elguindy NM, Ahmed Hafiz M, Samy WM. Selenium: A sole treatment for erosive oral lichen planus (Randomized controlled clinical trial). Oral Dis 2020; 26(4): 789-804.
14. Hawkes WC, Kelley DS, Taylor PC. The effects of dietary selenium on the immune system in healthy men. Biol Trace Elem Res 2001; 81(3): 189-213.
15. Hoffmann PR, Berry MJ. The influence of selenium on immune responses. Mol Nutr Food Res 2008; 52(11): 1273-1280.
16. Qian F, Misra S, Prabhu KS. Selenium and selenoproteins in prostanoid metabolism and immunity. Crit Rev Biochem Mol Biol 2019; 54(6): 484-516.
17. Rayman MP. The importance of selenium to human health. Lancet 2000; 356(9225): 233-241.
18. Kaur K, Sculley D, Wallace J, Turner A, Ferraris C, Veysey M, et al. Micronutrients and bioactive compounds in oral inflammatory diseases. Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism 2019; 18: 100105.
19. Arikan S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. Oral Dis 2009; 15(7): 512-515.
20. Karincaoglu Y, Batcioglu K, Erdem T, Esrefoglu M, Genc M. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. J Oral Pathol Med 2005; 34(1): 7-12.
21. Arthur J. The glutathione peroxidases. Cell Mol Life Sci 2000; 57(13-14): 1825-1835.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-07-15]