

علائم بیماری کاوازاکی به عنوان اولین تظاهرات لنفوم آنژیوایمنوبلاستیک

سهیلا آل یاسین (M.D.)^{*} رضا امین (M.D.)^{**}

چکیده

بیماری کاوازاکی، التهاب عروقی (Vasculitis) حاد و وسیع در اندام‌های مختلف می باشد که سن شایع آن ۶ ماهگی تا ۵ سالگی است. علت بیماری کاوازاکی ناشناخته می باشد. هر چند سوپر آنتی‌ژن‌ها ممکن است در بروز این بیماری نقش مهمی داشته باشند. در این مقاله یک مورد نادر مورد بحث قرار می گیرد، کودک ۱۰ ساله که با علائم بالینی کاوازاکی مراجعه کرده بود، ولی با وجود دریافت دو بار ایمون گلوبولین وریدی (IVIG) در مقادیر بالا و بهبودی سایر علائم بالینی، رشد غدد لنفاوی گردن وی همچنان ادامه یافت و سرانجام نمونه برداری از غدد لنفاوی وجود لنفوم از نوع آنژیوایمنوبلاستیک سلول T را نشان داد. با توجه به ناشناخته بودن علل بیماری کاوازاکی به عنوان التهاب عروقی، در صورت پایدار ماندن بزرگی غدد لنفاوی، احتمال وجود بیماری‌های زمینه‌ای مانند لنفوم را باید در نظر داشت.

واژه های کلیدی: کاوازاکی، لنفوم آنژیوایمنوبلاستیک، غدد لنفاوی

مقدمه

در این صورت یک پزشک با تجربه با تعداد کم‌تری علائم هم می‌تواند به تشخیص این بیماری برسد. در این گونه موارد وجود هیدروپس کیسه صفرا در سونوگرافی شکم، التهاب مشیمیه، جسم مژگانی و عنیه (Uveitis) قدامی و وجود چرک در ادرار (Pyuria) می‌تواند کمک کننده باشند (۱). بزرگی غدد لنفاوی در کاوازاکی معمولاً یک طرفه است ولی گاهی اندازه آن شدیداً بزرگ می‌شود، هر چند اغلب در عرض ۴-۳ روز اندازه آن کاهش می‌یابد (۳).

هر چند علت بیماری کاوازاکی ناشناخته است، عوامل محیطی، عفونت‌ها و سوپر آنتی‌ژن‌ها نقش

بیماری کاوازاکی، التهاب عروقی وسیع در اندام‌های مختلف کودکان می‌باشد و تشخیص این بیماری از جهت درگیری عروق کرونر قلب حائز اهمیت است (۱). تشخیص بر اساس وجود سابقه تب به مدت ۵ روز یا بیش‌تر و ۴ مورد مثبت از قرمزی و التهاب غیرچرکی ملتحمه چشم، قرمزی و ترک خوردگی لب‌ها و التهاب حلق، ادم یا قرمزی یا پوسته شدن انتهای اندام‌ها، ضایعات متنوع پوستی بجز انواع وزیکولار و بزرگی غدد لنفاوی بزرگتر از ۱/۵ سانتی متر در ناحیه گردن می‌باشد (۱، ۲). گاهی این بیماری به صورت اتیبیک بروز می‌کند یعنی علائم بالینی به صورت کامل ظاهر نمی‌شود.

* فوق تخصص ایمونولوژی و آلرژی، (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی شیراز

** فوق تخصص ایمونولوژی و آلرژی، (استاد) دانشگاه علوم پزشکی شیراز

تاریخ تصویب: ۸۴/۱/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۳/۲/۲۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۳/۴/۲۱

Email: alyasins. inf@sums.ac.ir

بسیار مهمی در بروز علائم کاوازاکی دارند (۴، ۵). سوپراانتیژن‌ها باعث تولید مقدار زیادی سیتوکاین در بدن می‌شوند، این افزایش سیتوکاین در مواردی مانند سندرم تخریب سلول‌های خونی به وسیله فاگوسیت‌ها (hemophagocytic) هم دیده می‌شود. نقش این مواد در ایجاد بیماری‌های دیگر مانند لنفوم سلول T هم گزارش شده است (۴). در مواردی همراهی بیماری کاوازاکی با هموفالوگوسیتیک حاد، سرطان حاد خون، منتزیوم و تومور بدخیم بافت عصبی به ویژه سیستم عصبی خودکار (Neuroblastoma) و در یک مورد بروز لنفوم به فاصله کوتاهی از بیماری کاوازاکی گزارش گردیده‌اند (۶ تا ۱۰). به نظر می‌آید در موارد بروز علائم بیماری کاوازاکی به صورت غیراختصاصی احتمال وجود بیماری‌های نئوپلازی را هم باید در نظر داشت. در این مقاله یک مورد نادر که در آن علایم اولیه لنفوم به صورت بی‌حاری کاوازاکی بروز کرده بود، مورد بحث قرار می‌گیرد.

معرفی بیمار

پسری ۱۰ ساله با سابقه تب به مدت ۱۷ روز به همراه راش پوستی در بیمارستان بستری شد. تب بیمار از ۱۷ روز قبل شروع می‌شود. بیمار با مراجعه به پزشک بنی سیلین تزریقی و داروهایی مانند نالیدیکسیک اسید، مترونیدازول (به دلیل چند بار اسهال) و آموکسی سیلین دریافت می‌کند. ولی همچنان تب داشته تا این که راش‌های پوستی قرمز رنگ همراه با کمی خارش بر روی صورت ظاهر می‌شود و سپس به بقیه بدن کشیده می‌شود. به همراه آن قرمزی چشم به صورت دو طرفه و غیرچرکی و لب‌های ترک خورده و تورم در ناحیه چپ گردن پیدا می‌کند و در بیمارستان بستری می‌گردد. بیمار مشکل سرفه، اسهال، استفراغ و دل درد نداشت. سابقه تماس با بیماری‌های دیگر و سابقه ابتلا به بیماری خاصی وجود نداشت و در معاینه، از نظر رشد و تکامل،

طبیعی بود. تب بیمار ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد (زیر زبان)، تعداد تنفس ۲۲ در دقیقه و ضربان قلب ۱۲۰ در دقیقه و فشار خون ۱۱۰/۶۰ میلی‌متر جیوه ثبت شد. در معاینات سر و گردن، التهاب ملتحمه غیرچرکی در ناحیه صلیبه (Bulbar) به صورت دو طرفه و زبان توت‌فرنگی و لب‌های ترک خورده و بزرگی و قرمزی لوزه‌ها مشاهده گردید. در طرف راست گردن، چند عدد غدد لنفاوی بزرگ در اندازه‌های مختلف بین ۱ الی ۱/۵ سانتی متر به دست می‌خورد. در نواحی تشریحی دیگر غدد لنفاوی بزرگی به دست نمی‌خورد، در معاینه قلب، کمی تاکی‌کاردی داشته که متناسب با تب بیمار بود، معاینه ریه طبیعی بود. در معاینه شکمی، کبد ۳ سانتی متر زیر لبه دنده‌ها لمس می‌شد و در دق شکم، طول کبد ۱۲ سانتی متر بود. طحال لمس نمی‌شد. در معاینه پوست بیمار، راش‌های ماکولوپاولار قرمز کم رنگ بر روی دست‌ها و سینه مشاهده می‌شد. در معاینه اندام‌ها نکته مثبت دیگری به چشم نمی‌خورد. آزمایش‌های بیمار در زمان بستری به صورت زیر بود: در شمارش کامل خونی تعداد گلبول‌های سفید ۱۳۳۰۰ در میکرولیتر، نوتروفیل ۷۱ درصد، لنفوسیت ۱۰ درصد، مونوسیت ۴ درصد، ائوزینوفیل ۲ درصد و باند ۱۳ درصد بود، هموگلوبین ۱۲/۴ گرم در دسی لیتر (g/dl) تعداد پلاکت ۲۶۰۰۰۰ در میلی لیتر گزارش گردید. آزمایش‌های Wright و Whidal منفی بود. در آزمایش کبدی پروتئین ۸ میلی گرم در دسی لیتر (mg/dl)، آلبومین ۳/۱ mg/dl، فسفاتاز آلکالین ۷۶۲ mg/dl، آسپارتات ترانس آمیناز ۱۵ mg/dl، آلانین ترانس آمیناز ۱۰ mg/dl بود. رسوب خونی و پروتئین ری اکتیو (CRP) افزایش یافته و به ترتیب ۴۵ mg/dl و ۴۲ میلی لیتر در ساعت بودند. در تجزیه ادرار ۱۰۱۸ SG، PH ۸، گلبول سفید ۶-۴، گلبول قرمز ۱-۲ گزارش شد. اوره ۱۹ mg/dl، سدیم ۱۴۰ و پتاسیم ۴ میلی مول در لیتر گزارش گردیدند. قند خون بیمار ۱۰۰ mg/dl بود. در روزهای اولیه بستری تعداد پلاکت افزایش یافت و به ۳۴۰۰۰۰ در میلی لیتر رسید. در دو اکوکاردیوگرافی مجدد که از قلب به عمل آمد، عروق

اغلب در سنین کودکی بین ۶ ماهگی تا ۵ سالگی رخ می‌دهد. مهم‌ترین عوارض ناشی از کاوازاکی، درگیری عروق کرونر قلب می‌باشد که می‌تواند به صورت آنوریسم بروز کند، در غیر این صورت بیماری بهبودی کامل پیدا می‌کند (۱،۲،۳،۴،۵)، لنفادنوپاتی در کاوازاکی معمولاً در قسمت جلویی گردن و یک طرفه می‌باشد. در شروع تب در این بیماری، گاهی غدد لنفاوی شدیداً بزرگ می‌شوند که منجر به تشخیص اشتباه و اعمال جراحی بر روی آن می‌گردد. به طور متوسط غدد لنفاوی ۴-۳ روز بزرگ می‌مانند و بعد از آن شروع به کوچک شدن می‌کنند. به دلیل بزرگی قابل ملاحظه غدد لنفاوی در شروع، سابقاً به این بیماری سندروم مخاطی پوستی-غده لنفاوی (Mucocutaneous lymph node syndrome) اطلاق می‌شد (۱،۲،۳،۴). علت این بیماری نامشخص است ولی سوپرآنتی‌ژن‌های به دست آمده از میکروب‌ها، ویروس‌ها و پارازیت‌ها در بروز این بیماری نقش مهمی دارند (۴). سوپرآنتی‌ژن‌ها مواد پروتئینی حاصل از میکروب‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها می‌باشند که قادر هستند از راه‌های غیر اختصاصی، در حدود ۲۰ درصد کلون‌های سلول‌های لنفوسیت T را تحریک کنند و بنابراین باعث می‌شوند مقدار زیادی سیتوکاین ترشح شود و آسیب بافتی زیادی ایجاد می‌شود (۴،۵). بروز جغرافیایی خاص و فصلی، محدوده سنی بیماری و دوره بهبودی خودبخود در اغلب موارد نشان دهنده وجود یک روند عفونی زمینه‌ای به عنوان سبب‌شناسی اولیه می‌باشد. یافتن میکروب استافیلوکوک طلایی و استرپتوکوکوس در تولید سوپرآنتی‌ژن‌ها در کاوازاکی در بعضی مطالعات، مشابهت این بیماری را با سندرم شوک توکسیک نشان می‌دهد، هر چند سن شایع و محل تجمع این ارگانیزم‌ها در بروز و شدت این بیماری‌ها موثر است (۵)، سوپر آنتی ژن‌ها در بیماری‌های دیگر مثل درماتیت اتوپیک، پسوریازیس، واسکولیت و لنفوم سلول T نیز می‌توانند موثر باشند (۴).

کرونر طبیعی بودند و تنها مختصری پرولاپس درپچه میترال مشاهده شد. ولی تجمع غیرعادی مایع در پریکارد و اختلال عمل در عضلات قلب وجود نداشت. با تشخیص بیماری کاوازاکی، ایمون گلوبولین وریدی (IVIG) با میزان ۲ گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن برای وی تجویز شد، ولی تب بیمار همچنان ادامه پیدا کرد و ۲ روز بعد از بستری شدن، پوسته ریزی در ناحیه پرینه و انگشتان دست و پا آغاز گردید. با ادامه تب بیمار، یک بار دیگر ایمون گلوبولین وریدی با دوز ۲ گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن تجویز شد و سرانجام تب بیمار قطع گردید، ولی اندازه غدد لنفاوی گردن افزایش می‌یافت. در آزمایش‌های بعدی، رسوب خونی افزایش یافته و به ۵۲ و سپس به ۹۶ میلی لیتر در ساعت رسیده بود. میزان باند در شمارش کامل خونی کاهش یافت و به ۱ درصد رسید. هموگلوبین بیمار ۱۰ g/dl و لاکتیت دی هیدروژناز (LOH) سرم بیمار ۱۹۷ mg/dl گزارش گردید. آنتی‌بادی هتروفیل منفی گزارش شد. در سونوگرافی از شکم علاوه بر بزرگی کبد، طحال مقدار کمی بزرگ شده بود و به ۱۰۰ میلی متر و درسونوگرافی بعدی به ۱۱۶ میلی متر رسیده بود و کورتکس کلیه چپ هم ضخیم گزارش گردید. سونوگرافی از گردن، تعدادی غدد بزرگ لنفاوی را نشان می‌داد که عروق ناحیه را مثل سیاهرگ ژوگولار و شریان کاروتید مشترک را جابه‌جا کرده بود. آزمایش مغز استخوان طبیعی گزارش شد. سرانجام از غدد لنفاوی ناحیه گردن، نمونه برداری به عمل آمد و گزارش آن Angioimmunoblastic like T cell lymphoma بود که اکثر آنها نشانگر CD₄₃ داشتند و نشانگرهای CD₁₅، CD₃₀، CD₂₀ را نداشتند. هر چند بعضی از ایمونوبلاست‌ها نشانگرهای CD₂₀ را نشان می‌دادند.

بحث

بیماری کاوازاکی، التهاب عروقی وسیع و درگیری عروق با اندازه‌های متفاوت به خصوص شریان‌های با اندازه متوسط در عروق کرونر می‌باشد. این بیماری

در گزارش‌های مختلف ویروس‌هایی مانند آدنوویروس، هرپس سیمپلکس، انتروویروس‌ها و ویروس ایشیتن بار در کاوازاکی یافت شده‌اند (۲۷). ویروس ایشیتن بار به عنوان یک علت در لنفوم نیز شناخته شده است (۱۲، ۱۱). روش دقیق بررسی این ویروس با روش Polymerase chain reaction (PCR) می‌باشد که در این مرکز برای این ویروس عملی نبود. در مطالعات جدید افزایش سیتوکاین‌ها در فاز حاد مانند Interlukin 1 (IL1) و Tumor necrosis factor α (TNF α) در این بیماری گزارش گردیده است (۱۳).

در فاز حاد بیماری کاوازاکی تغییراتی از نظر ایمنی‌شناسی مانند کاهش لنفوسیت با نشانگر CD_8^+ ، افزایش لنفوسیت‌های CD_4^+ در خون و نفوذ سلول‌های CD_8^+ به داخل دیواره عروق کرونر مشاهده می‌گردد (۱۱، ۳). از طرفی سوپر آنتی‌ژن‌ها، لنفوسیت‌های T را بر علیه میزبان تحریک می‌کنند و باعث تولید آنتی‌بادی بر علیه میزبان از سلول‌های B می‌گردند (۴). بر اثر واکنش‌های ایمنی میزبان، سلول‌های التهابی مثل سلول‌های پلازما حاوی ایمینون گلوبولین A در اندام‌های داخلی بدن مثل میوکارد، مجاری تنفسی فوقانی، لوزالمعده، کلیه‌ها و مجاری صفراوی نفوذ می‌کنند ولی معمولاً عارضه‌ای به جا نمی‌گذارند (۱۱).

در مطالعه و بررسی که از طریق Pubmed به عمل آمد همراهی بیماری کاوازاکی با بعضی بیماری‌های نئوپلاستیک در موارد اندکی گزارش گردیده بود. در این مقاله ۲۹ بیمار که در آن‌ها بدخیمی‌ها به صورت بیماری‌های روماتیسمی بروز کرده بود، گزارش شده بودند که ۲ بیمار آن‌ها مبتلا به تب طولانی مشکوک به کاوازاکی بودند و نهایتاً تشخیص، بیماری سرطانی بود. هر چند در این مقاله ذکر نشده است که کدام نوع سرطان در این بیماران وجود داشته است (۱۰). در یک گزارش، ۱۱ ساله‌ای با بیماری لوسمی مونوسیتییک حاد در هفته اول شیمی درمانی دچار علائم بیماری کاوازاکی به همراه آنوریسم عروق کرونر شده بود.

علائم بیماری کاوازاکی به درمان IVIG پاسخ داده بود ولی آنوریسم عروق کرونر بهبودی نیافته بود. افزایش سیتوکاین‌ها در بیماری زمینه‌ای در تحریک سیستم ایمنی برای بروز کاوازاکی توجه‌کننده همراهی این دو بیماری بوده است (۷) در یک مورد کودک ۷ ساله‌ای با سابقه دوازده روز تب، بستری شده بود و علاوه بر علائم بالینی، در اکوکاردیوگرافی آنوریسم عروق کرونر چپ مشاهده گردیده بود و با تشخیص کاوازاکی درمان شده بود، ولی رسوب خونی بیمار بالا باقی مانده بود و به دلیل بروز کمردرد به همراه تکرر و بی‌اختیاری ادرار بعد از چند ماه، تصویر برداری با استفاده از رزونانسی مغناطیسی (MRI) در ناحیه کمر بیمار صورت گرفت که یک Intradural tumor extramedullary متمرکز در T_1 نشان داده بود و از نظر آسیب‌شناسی، تومور خوش‌خیم منژ مهره‌ای (Benign Spinal meningiona) بود که با خارج نمودن تومور، علائم بیماری بهبودی یافته بود. در این مقاله پیشنهاد شده بود که در تمام بیماران دچار التهاب عروقی، احتمال یک روند اولیه را باید در نظر داشت (۸). در یک گزارش دیگر دو کودک ۱۰ و ۱۱ ساله با علائم بیماری کاوازاکی بستری شده بودند و با دو دوره IVIG تب آنها سرانجام قطع شده بود ولی دو روز بعد از قطع تب، مجدداً دچار تب همراه با بزرگی طحال، بزرگی غدد لنفاوی و افزایش تری گلیسیرید خون و سیتوینی شده بودند که در بررسی‌های به عمل آمده، بیماری‌های عفونی مختلف، منفی گزارش شدند و سرانجام تشخیص سندرم هموفاگو سیتیک داده می‌شود. هر چند مکانیزم همراهی این دو بیماری نامشخص بوده است، علت احتمالی آن تغییرات غیر طبیعی لنفوسیت‌های T می‌باشد که باعث افزایش سیتوکاین‌ها می‌شود و در بیماری‌زایی هر دو مورد دخیل می‌باشد (۶). بروز کاوازاکی به همراه نوروبلاستوما در چند مورد گزارش گردیده بود. در یک گزارش کودک چهارماهه‌ای با علائم کاوازاکی تحت درمان قرار می‌گیرد. ولی به دلیل احتباس ادرار، در سی تی

$TNF \alpha$ و $IL1$ می تواند توجه کننده بروز این دو بیماری با هم باشد (۱۰).

لنفوم انژیوایمنوبلاستیک لنفوسیت T یکی از اشکال متفاوت از لنفوم لنفوسیت T محیطی می باشد که در اغلب موارد غدد لنفاوی، طحال و مغز استخوان را درگیر می کند و همراه با علائم سیستمیک در بدن می باشد (۶).

هر چند ممکن است که این دو بیماری به صورت تصادفی با هم بروز کرده باشند، با توجه به اطلاعات ذکر شده و ناشناخته بودن علل بیماری کاوازاکی، احتمال بروز علائم این بیماری به دنبال تغییرات ایمنولوژیک ایجاد شده بر اثر فعال شدن کولونی T cell و افزایش سیتوکین ها در بیماری لنفوم وجود دارد. بنابراین با توجه به ناشناخته بودن علت بیماری کاوازاکی، در موارد پایدار ماندن علائم بالینی مانند بزرگ بودن غدد لنفاوی، بیماری های زمینه ای مانند لنفوم را نباید از نظر دور داشت.

اسکن شکم، یک توده در پشت مثانه مشاهده می گردد که آزمایش آسیب شناسی آن مؤید نوروبلاستوما بوده است و بعد از درآوردن توده، علائم بیمار بهبودی می یابد (۹).

در یک گزارش دیگر، ۲ بیمار مورد بحث قرار گرفته بودند که در مورد اول یک پسر بچه ۳ ساله با علائم بالینی کاوازاکی تحت درمان IVIG قرار گرفته بود، ولی بعد از ۴ هفته دچار بزرگی طحال و کبد و اکیموز روی بدن شده بود و در نمونه مغز استخوان، لوسمی لنفوبلاستیک حاد از نوع Pre B cell نشان داده شد و با درمان بهبودی یافته بود و در مورد دوم یک پسر بچه ۱۲ ساله با علائم کاوازاکی IVIG دریافت کرده بود، ولی در معاینه بالینی یک ماه بعد یک غده لنفاوی بزرگ ۴ سانتی متری در گردن داشت که در نمونه برداری، هوجکین تشخیص داده شد و در لاپاراتومی در Stage 4 قرار داشت. در همراهی دو بیماری کاوازاکی و لنفوم از نظر ایمنی شناسی، علت اولیه باعث فعال شدن کولون های لنفوسیت T می شود و سیتوکین ها به مقدار زیاد در بدن تولید می شوند. افزایش سیتوکین هایی مانند

فهرست منابع

1. Petty R, Cassidy J. Kawasaki disease. Cassidy J, Petty R editors. *Textbook of Pediatric rheumatology*. 4th ed. Philadelphia: Saunders Co 2001. P: 580-94.
2. Stockbeim J, Innocentini N, Shulman S. Kawasaki disease in older children and adolescents. *J Pediatr* 2000;137(2):250-2.
3. Gulora GA, Moore IE. Kawasaki disease, Epstein Bar virus and coronary artery aneurysms. *J Clin Pathol*. 1997 Feb; 50(2): 161-3.
4. Jappe U. Super antigen and their association with dermatological inflammatory disease: facts and hypothesis. *Acta Derm Venereol*. 2000 Sep-Oct; 85(5): 321-8.
5. Meissner H, Leung D. Superantigens, conventional antigens and the etiology of Kawasaki syndrome. *Pediatr Infect Dis J*, 2000; 19: 91-4.
6. Palazzi D, Kenneth L, Sheldon K. Hemophagocytic syndrome after Kawasaki disease. *Ped Inf Dis*. 2003; 22(7): 663-5.

7. Akita H, Matsuoka S, Takahashi Y, Watanabe T, Takave Y, Kuroda Y. Kawasaki-like disease in early course of acute monocytic leukemia. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 177-178.
8. Jalil A, Malleson P, Petty R, Cabral D. Apparent medium vessels vasculitis MRI Associated with a spinal meningioma. *J of Rheumatol* 1999; 26: 5, 1211-3.
9. Ohta S, Narita T, Kato H, Taga T, Takeuchi Y. A patient with Kawasaki disease who developed acute urinary retention due to pelvic neuroblastoma. *Eur J Pediatr* 2002 Nov; 161(11): 631.
10. Murray JC, Bomguars LR, Carcamo B, Mahoney DH. Lymphoid malignancies following Kawasaki disease. *Am J Hematol*, 1995 Dec; 50(4): 299-300.
11. Rowley A, Shulman S. Kawasaki disease. In Behrman R, Kliegman R, Jenso H. *Textbook of Pediatrics*. 17th ed. Philadelphia Saunders Co 2004. P 823-66.
12. Segal GH, Perkins Sh, Kjeldsberg CR. Benign lymphadenopathies in children and adolescents. *Semin Diagn Pathol*. 1995 Nov; 12(4): 288-302.
13. Ahn S, Jang G, Shin J, Shin KM, Kim Ds. Tumor necrosis factor-alpha levels and promoter polymorphism in patients with Kawasaki disease in Korea. *Yonsei Med J*. 2003 Dec 30; 44(6): 1021-6.
14. Cabral DA, Tucker LB. Malignancies in children who initially present with rheumatic complaints. *J Pediatr*. 1999 Jan; 134(1): 53-7.
15. Lee PS, Lin CN, Chuang SS. Immunophenotyping of angioimmunoblastic T-cell lymphoma by multiparameter flowcytometry. *Pathol Res Pract*. 2003; 199(8): 539-45.