

## مقایسه ظرفیت تام آنتی اکسیدان بزاق در افراد سیگاری و غیرسیگاری

فاطمه اربابی کلاتی\*، طاهره نصرت زهی\*\*، سعیده سلیمی\*\*\*، رویا صادقی سبزواری\*\*\*\*، پروین اربابی کلاتی\*\*\*\*\*  
 \* دانشیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات ژنتیک در بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران.  
 \*\* استادیار گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران.  
 \*\*\* دانشیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران.  
 \*\*\*\* دانشجوی دندانپزشکی  
 \*\*\*\*\* دستیار تخصصی گروه پرئودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ایران.  
 تاریخ ارائه مقاله: ۹۲/۸/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۱۵

### Comparison of Total Antioxidant Capacity of Saliva in Smokers and Non-Smokers

Fateme Arbabi-Kalati\*, Tahereh Nosratzahi\*\*#, Saeede Salimi\*\*\*, Roya Sadeghi Sabzevari\*\*\*\*  
 Parvin Arbabi-Kalati\*\*\*\*\*

\* Associate Professor of Oral Medicine, Genetics of Non Communicable Disease Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

\*\* Assistant Professor, Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

\*\*\* Associate Professor Biochemistry, School of Medicine, Cellular and Molecular Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

\*\*\*\* Dentistry Student

\*\*\*\*\* Postgraduated Student, Dept of Periodontology, School of Dentistry, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

Received: 17 November 2013 ; Accepted: 5 May 2013

**Introduction:** Smoking is a harmful habit that causes adverse effects on oral health and plays the most important role in cancer, precancerous lesions and periodontal disease. Saliva is the first fluid that is exposed to cigarette smoke. Salivary antioxidant system plays an important role in its anti-cancer potential therefore; this study was designed to compare the antioxidant content of saliva of smokers and non-smokers.

**Materials & Methods:** In this cross-sectional study unstimulated saliva of 50 male smokers and 50 male non-smokers who were free of oral disease were collected by spitting method and total antioxidant capacity of their saliva was evaluated by FRAP method. Data were analysed by SPSS software version 21 and independent t test was used to compare the two groups.

**Results:** The average total antioxidant capacity of saliva in smokers and non-smokers were  $489.95 \pm 203.82$  and  $589.48 \pm 226.05$ , respectively which were significantly different ( $P=0.008$ ).

**Conclusion:** Based on the results, smoking can reduce the total antioxidant capacity of saliva.

**Key words:** Smoking, saliva, total antioxidant.

# Corresponding Author: nosratzahi@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2014; 38(2): 93-8.

### چکیده

**مقدمه:** سیگار کشیدن عادت مضر است که سبب اثرات مخرب روی سلامت دهان می‌شود و مهمترین نقش را در ایجاد ضایعات سرطانی و پیش سرطانی و بیماری‌های پرئودنتال دارد. بزاق اولین مایع بدن است که با دود سیگار مواجه می‌شود. سیستم آنتی‌اکسیدان بزاقی نقش مهمی در ظرفیت ضدسرطانی آن دارد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان کلی بزاق افراد سیگاری و غیرسیگاری طراحی شد.

# مولف مسؤول، نشانی: زاهدان، دانشکده دندانپزشکی، گروه بیماری‌های دهان، فک و صورت. تلفن: ۰۹۱۵۳۴۸۰۱۵۱

E-mail: nosratzahi@yahoo.com

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مقطعی، بزاق غیرتحریکی ۵۰ مرد سیگاری و ۵۰ مرد غیرسیگاری فاقد بیماری دهانی با روش Spitting جمع‌آوری گردید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق دو گروه با روش FRAP بررسی شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ آنالیز شد و جهت مقایسه دو گروه از  $t$  test مستقل استفاده گردید.

**یافته‌ها:** متوسط ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق در گروه سیگاری و غیرسیگاری به ترتیب  $۴۸۹/۹۵ \pm ۲۰۳/۸۲$  و  $۵۸۹/۴۸ \pm ۲۲۶/۰۵$  بود که دو گروه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ( $P=۰/۰۰۸$ ).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج مطالعه حاضر سیگار کشیدن می‌تواند میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق را کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** سیگار کشیدن، بزاق، آنتی‌اکسیدان تام.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۳ دوره ۳۸ / شماره ۲: ۸-۹۳.

## مقدمه

سیگار کشیدن بر سیستم آنتی‌اکسیدان بزاق افراد سالم و بدون بیماری پرپودنتال انجام شده است. در مطالعه Kanehira و همکاران<sup>(۱)</sup> اثر سیگار روی بزاق افراد مسن سیگاری و غیرسیگاری بررسی شد و به این نتیجه رسیده شد که آنتی‌اکسیدان‌ها در بزاق افراد سیگاری بیش از افراد غیرسیگاری است ولی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در بزاق غیرسیگاری‌ها بیشتر است. در مطالعه Charabapoul و همکاران<sup>(۷)</sup> بر روی مردان جوان و سالم علی‌رغم این که میزان آنتی‌اکسیدان پلاسما در افراد سیگاری بالاتر بود، آنتی‌اکسیدان بزاق بین افراد سیگاری و غیرسیگاری تفاوتی نداشت. مطالعه بهاروند و همکاران<sup>(۸)</sup> نشان داد که آنزیم سوپر اکسیداز که جزو سیستم آنتی‌اکسیدان است، مقادیر فعالیت بیشتری در افراد سیگاری نسبت به افراد غیرسیگاری دارد، که به نظر می‌رسد این افزایش منجر به کاهش اثر رادیکال‌های آزاد توسط سیگار کشیدن می‌شود. در مطالعه‌ای که عبدالصمدی و همکاران<sup>(۹)</sup> انجام دادند سطح متوسط سوپراکسید دسموتاز، گلوکوتایون پراکسیداز و پراکسیداز بزاق به طور واضحی در سیگاری‌ها پایین‌تر از غیرسیگاری‌ها بود. با توجه به نتایج ضدونقیض مطالعات محدود موجود به نظر می‌رسد که تحقیق در این زمینه کافی نمی‌باشد؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان کلی بزاق افراد سیگاری و غیرسیگاری طراحی شد.

سیگار کشیدن عادت مضر است که سبب اثرات مخرب روی سلامت دهان می‌شود و مهمترین نقش را در ایجاد ضایعات سرطانی و پیش سرطانی و بیماری‌های پرپودنتال دارد. دود سیگار حاوی اجزای سمی بسیاری مانند مونواکسیدکربن، کریبید هیدروژن، بنزوپیریدین و رادیکال‌های اکسیژن است، که این اجزا می‌تواند اختلالات سیستمیک مثل بیماری قلبی، سرطان و بیماری ریه را ایجاد کند. اکسیژن‌های واکنشی ممکن است سبب تغییرات سیتوتوکسیک روی اجزای داخل یا خارج سلولی شود که منجر به اختلال عملکرد سلولی می‌گردد. تنباکو می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بزاق را تغییر دهد ولی دلایل این تغییرات نامشخص است.<sup>(۱)</sup> اخیراً ثابت شده است که عدم تعادل در سطح رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنشی همراه با آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است یک نقش کلیدی در شروع و توسعه چندین آسیب التهابی دهان بازی کند.<sup>(۲-۴)</sup> دود سیگار یک منبع عمده رادیکال‌های آزاد است و دود تنباکو حاوی عوامل اکسیدان و پر اکسیدان است.<sup>(۵)</sup> بزاق اولین مایع بدن است که با دود سیگار مواجه می‌شود. سیستم آنتی‌اکسیدان بزاقی نقش مهمی در ظرفیت ضدسرطانی بزاق دارد و شامل آنزیم‌ها و مولکول‌های مختلف مثل اسید اوریک و سیستم پراکسیداز است. مطالعات محدودی در زمینه اثر

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت مقطعی طراحی شده است و به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی زاهدان رسیده است.

پس از کسب رضایت آگاهانه، تعداد ۵۰ فرد سالم بدون بیماری پریدنتال و بدون سابقه سیگار کشیدن به عنوان گروه شاهد و تعداد ۵۰ فرد سالم بدون بیماری پریدنتال و با سابقه کشیدن حداقل ۱۰ عدد سیگار در روز به مدت ۳ سال به عنوان گروه مورد وارد مطالعه شدند. در این مطالعه افراد مبتلا به بیماری‌های سیستمیک، دارای سابقه آفت یا هر بیماری دهانی دیگر، افرادی که مکمل‌های ویتامین در طی ۳ ماه گذشته مصرف کرده بودند، کسانی که هر دارویی را بیش از ۳ ماه مصرف کرده بودند و افراد با پاکت پریدنتال بیش از ۳ میلی‌متر از مطالعه حذف شدند.

دو گروه از نظر سن و جنس یکسان گردیدند. از تمام نمونه‌ها در طی ساعت ۱۰-۱۱ صبح نمونه بزاق جمع‌آوری شد. از بیماران خواسته شد قبل از جمع‌آوری نمونه، دهان خود را با سرم فیزیولوژیک شستشو دهند. سپس ظروف مخصوص که آزمایشگاه در اختیار محقق قرار داده بود، به بیمار داده شد و از بیمار خواسته شد که به مدت ۵ دقیقه بزاق غیرتحریکی جمع شده در دهان خود را درون ظرف بریزد. نمونه بزاق بلافاصله سانتریفوژ گردید و به فریزر با دمای ۲۰- درجه جهت ارسال به آزمایشگاه منتقل شد. برای اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق، از آزمون استاندارد (FRAP Ferric Reducing Ability of Plasma) استفاده شد. این روش بر اساس توانایی بزاق در احیای یون‌های  $Fe^{+3}$  (فریک) به  $Fe^{+2}$  (فرو) در حضور ماده‌ای به نام TPTZ (Tripyridyl striazine) که به عنوان معرف مورد استفاده قرار می‌گیرد، استوار است، که نتیجه آن کمپلکس آبی رنگ Fe-TPTZ با

ماکزیمم جذب در ۵۹۳ نانومتر می‌باشد. میزان قدرت احیاکنندگی بزاق از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (WPA biowave II) ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها در نرم افزار SPSS با ویرایش ۲۱ وارد شد و جهت مقایسه دو گروه از آزمون t test مستقل استفاده گردید. جهت مقایسه میزان آنتی‌اکسیدان بر حسب میزان مصرف سیگار آزمون پارامتری Mann Whitney u استفاده شد.

## یافته‌ها

در مجموع ۱۰۰ نفر داوطلب واجد شرایط در این مطالعه شرکت کردند که تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه مرد بودند. متوسط سنی شرکت کنندگان در گروه غیرسیگاری  $42/4 \pm 9/5$  سال و در گروه سیگاری  $43/1 \pm 10$  سال بود که دو گروه از لحاظ سن اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند ( $P=0/4$ ).

متوسط مصرف سیگار در گروه سیگاری 7 Pack per year (بیمار در طی ۷ سال روزانه یک پاکت سیگار مصرف کرده است). بود که کمترین میزان مصرف 5 Pack per year و بیشترین میزان 30 Pack per year بود.

جدول ۱ سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در دو گروه را نشان می‌دهد، همانگونه که مشاهده می‌شود بین دو گروه اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده می‌گردد و میزان آنتی‌اکسیدان در بزاق افراد غیرسیگاری بیشتر است.

افراد گروه سیگاری به دو گروه تقسیم شدند: در گروه اول میزان مصرف سیگار 5-10 Pack per year و در گروه دوم میزان مصرف سیگار  $10 \text{ Pack per year} <$  بود.

جدول ۲ سطح آنتی‌اکسیدان را در این دو گروه نشان می‌دهد. بین دو گروه اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید، به طوری که میزان آنتی‌اکسیدان در بزاق افرادی که کمتر سیگار مصرف می‌کردند بیشتر بود.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار سطح آنتی اکسیدان بزاق در دو گروه سیگاری و غیرسیگاری

نتیجه آزمون	SD	میانگین μmol/lit	گروه
t=۲/۶۸    P=۰/۰۰۸	۲۰۳/۸۲	۴۸۹/۹۵	سیگاری
	۲۲۶/۰۵	۵۸۹/۴۸	غیرسیگاری

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار سطح آنتی اکسیدان بزاق در افراد گروه سیگاری

P-value	SD	میانگین μmol/lit	گروه
۰/۰۱	۲۲۷	۵۴۴/۸	5-10 Pack per year
	۱۴۵/۴۵	۴۰۷	10 Pack per year<

## بحث

Greabu و همکاران<sup>(۱۱)</sup> نشان دادند که ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بزاق در افراد سیگاری پایین تر از افراد غیرسیگاری است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

Fujinami و همکاران<sup>(۱۲)</sup> با مطالعه بر روی موش های صحرائی نشان داد میزان فعالیت پراکسیداز و پروتین کلی بزاق در موش هایی که در معرض دود سیگار قرار داشتند کمتر از سایر موش ها بود.

Baharvand و همکاران<sup>(۸)</sup> فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را که یکی از اجزای سیستم آنتی اکسیدانی می باشد را، در بزاق افراد سیگاری و غیرسیگاری بررسی کرد و نشان داد فعالیت این آنزیم در بزاق افراد سیگاری بیشتر است، اما با توجه به اینکه ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بزاق را بررسی نکرده است، نتایج وی قابل قیاس با مطالعه حاضر نمی باشد.

آنتی اکسیدان ها با اثرات مخرب رادیکال های آزاد مقابله می کنند و ساختار و یکپارچگی بافت را حفظ می کنند. گزارش شده است عدم تعادل بین رادیکال های آزاد و سطوح آنتی اکسیدان ها نقش مهمی را در شروع و تکامل بیماری های التهابی دهان بازی می کند. Cowan و همکارانش<sup>(۱۰)</sup> به طور جالبی نشان دادند که غلظت خونی چندین آنتی اکسیدان شامل لیکوپن، بتاکاروتن، رتینول و آلفا توکوفرول با غلظت آنها در بافت های دهانی ارتباط ندارد. به هر حال مطالعه در مورد آنتی اکسیدان های بزاق محدود و متناقض است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سیگار کشیدن میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی بزاق را کاهش می دهد. مطالعات محدودی اثر سیگار کشیدن را بر روی بزاق افراد سالم و فاقد بیماری پریودنتال بررسی کرده است که نتایج برخی از آنها با مطالعه حاضر در یک راستا می باشد.

اما با توجه به حجم کم نمونه در زیر گروه افراد سیگاری و یکسان نبودن تعداد افراد در این دو زیرگروه نمی‌توان این نتیجه را تعمیم داد. علاوه بر این در سایر مطالعات میزان آنتی‌اکسیدان بر حسب مصرف سیگار ارزیابی نشده بود و امکان مقایسه این قسمت از نتایج با سایر مطالعات وجود نداشت.

مطالعه حاضر چندین محدودیت داشت. اول اینکه در این مطالعه میزان آنتی‌اکسیدان تام اندازه گیری شده است نه فعالیت آنزیم‌ها، میزان پروتئین در بزاق همیشه با میزان فعالیت آن و یا نقش بیولوژیک آن در دهان رابطه مستقیم ندارد. دومین محدودیت مطالعه حاضر مقطعی بودن آن است و ممکن است نشان دهنده رابطه موقت بین سیگار کشیدن و ظرفیت آنتی‌اکسیدان تام بزاق باشد و محدودیت سوم این است که در مورد افرادی که قبلاً سیگاری بوده‌اند اطلاعی در دست نبود،

#### نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه، سیگار کشیدن میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام بزاق را کاهش می‌دهد هر چند میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در افراد مورد مطالعه مشخص نشده است.

#### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر منتج از پایان نامه دانشجویی که با شماره ۵۸۸ ثبت شده است، می‌باشد. بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشکده دندان پزشکی زاهدان، به دلیل حمایت مالی جهت اجرای پژوهش و پرسنل آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی زاهدان به دلیل همکاری فراوان تقدیر و تشکر می‌نمائیم.

در مطالعه Guentsch و همکاران<sup>(۱۳)</sup> میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق در افراد سیگاری دارای بیماری پریودنتال نسبت به بقیه گروه‌های مورد مطالعه کمتر بود. نتایج برخی از مطالعات نیز با نتایج مطالعه حاضر تفاوت دارد.

Zappacosta و همکاران<sup>(۱۴)</sup> نشان داد بین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق در افراد سیگاری و غیرسیگاری مشابه است اما میزان glutathione در افراد سیگاری بیش از غیرسیگاری‌ها است.

Charalabopoulos و همکاران<sup>(۷)</sup> ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بزاق و پلاسمای ۲۰ فرد سیگاری و ۲۰ فرد غیرسیگاری فاقد ضایعه دهانی را بررسی کردند و نشان دادند علی‌رغم افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی پلاسما در افراد سیگاری، میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق در دو گروه تفاوتی ندارد.<sup>(۷)</sup>

Buduneli و همکاران<sup>(۱۵)</sup> با بررسی ۱۰ داوطلب سالم غیرسیگاری و ۱۰ داوطلب سالم سیگاری و Guentsch و همکاران<sup>(۱۳)</sup> با مطالعه ۱۵ داوطلب سالم غیرسیگاری و ۱۵ داوطلب سالم سیگاری نشان دادند که بین میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بزاق دو گروه تفاوتی وجود ندارد.

Kanehira و همکاران<sup>(۶)</sup> با مطالعه بر روی افراد مسن سیگاری و غیرسیگاری نشان داد آنتی‌اکسیدان‌ها در بزاق افراد سیگاری بیش از افراد غیرسیگاری است ولی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در بزاق غیرسیگاری‌ها بیشتر است.

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر نمونه بزاق زمانی جمع‌آوری گردید که بیماران سیگار مصرف نکرده بودند، به نظر می‌رسد سیگار کشیدن با گذشت زمان می‌تواند روی سیستم دفاعی غدد بزاقی تاثیر داشته باشد.

در مطالعه حاضر در گروه افراد سیگاری میزان ظرفیت تام بزاق در افرادی که بیشتر سیگار می‌کشیدند، کمتر بود.

## منابع

1. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002; 29(3): 189-94.
2. Pasupathi P, Rao YY, Farook J, Saravanan G, Bakthavathsalam G. Effect of cigarette smoking on lipids and oxidative stress biomarkers in patients with acute myocardial infarction. *Res J Med Sci* 2009; 4(2): 151-9.
3. Preston AM. Cigarette smoking-nutritional implications. *Prog Food Nutr Sci* 1991; 15(4): 183-217.
4. Kosecika M, Erelb O, Sevincc E, Selekb S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol* 2005; 100(1): 61-4.
5. Yildiz L, Kayaoğlu N, Aksoy H. The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(6): 612-5.
6. Kanehira T, Shibata K, Kashiwazaki H, Nobue I, Morita M. Comparison of antioxidant enzymes in saliva of elderly smokers and non-smokers. *Gerodontol* 2006; 23(1): 38-42.
7. Charalabopoulos K, Assimakopoulos D, Karkabounas S, Danielidis V, Kiortsis D, Evangelou A. Effects of cigarette smoking on the antioxidant defence in young healthy male volunteers. *Int J Clin Pract* 2005; 59(1): 25-30.
8. Baharvand M, Maghami AG, Azimi S, Bastani H, Ahmadieh A, Taghibakhsh M. Comparison of superoxide dismutase activity in saliva of smokers and non-smokers. *South Med J* 2010; 103(5): 425-7.
9. Abdolsamadi H, Goodarzi M, Mortazavi H, Robati M. Comparison of salivary antioxidants in healthy smoking and non-smoking men. *Chang Gung Med J* 2011; 34(6): 607-11.
10. Cowan CG, Calwell EI, Young IS, McKillop DJ, Lamey PJ. Antioxidant status of oral mucosal tissue and plasma levels in smokers and non-smokers. *J Oral Pathol Med* 1999; 28(8): 360-3.
11. Greabu M, Totan A, Battino M, Mohora M, Didilescu A, Totan C, et al. Cigarette smoke effect on total salivary antioxidant capacity, salivary glutathione peroxidase and gamma-glutamyltransferase activity. *Biofactors* 2008; 33(2): 129-36.
12. Fujinami Y, Fukui T, Nakano K, Ara T, Fujigaki Y, Imamura Y, Hattori T, Yanagisawa S, Kawakami T, Wang PL. The effects of cigarette exposure on rat salivary proteins and salivary glands. *Oral Dis* 2009; 15(7): 466-71.
13. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: Effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig* 2008; 12(4): 345-52.
14. Zappacosta B, Persichillia S, De Solea P. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol* 1999; 44: 485-8.
15. Buduneli N, Kardeşler L, Işık H, Willis CS 3rd, Hawkins SI, Kinane DF. Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol* 2006; 33(3): 159-64.