

• 临床检验研究论著 •

血清胱抑素 C 对新生儿窒息后肾损伤诊断价值的 Meta 分析

梁培松, 王伟佳, 王结珍, 韩登科

(中山大学附属中山市人民医院检验医学中心, 广东中山 528400)

摘要:目的 探讨血清胱抑素 C(cys C)对新生儿窒息后肾功能损伤的诊断价值。方法 检索 PubMed、Ovid、Springer 数据库、中国期刊全文数据库、万方数据库和维普数据库的在库文献,按照诊断试验的纳入标准筛选文献,提取纳入研究的特征信息。数据分析采用 RevMan 5.1 软件,检验异质性并根据结果选择相应效应模型进行 Meta 分析。结果 按照纳入标准,最终获得 23 篇文献。经 Meta 分析结果表明轻度窒息组和重度窒息组的血清 cys C 水平比对照组的分别高 1.66(1.35~1.97)和 3.78(3.23~4.34)倍标准差,而重度窒息组的血清 cys C 水平比轻度窒息组的高 2.05(1.61~2.48)倍标准差,说明窒息新生儿的血清 cys C 水平比健康新生儿的高,且窒息程度越严重,血清 cys C 水平越高。结论 血清 cys C 的水平有助对窒息新生儿肾功能损伤的早期诊断及严重程度的评价。

关键词:半胱氨酸蛋白酶抑制剂; 窒息,新生儿; 肾; meta 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)14-1801-02

A meta-analysis of the diagnostic value of Serum cystatin C in kidney injury induced by Asphyxia newborn

Liang Peisong, Wang Weijia, Wang Jiezheng, Han Dengke

(Zhongshan Afiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

Abstract: **Objective** To explore the diagnosis value of the serum cystatin C in kidney injury induced by Asphyxia newborn. **Methods** To search PubMed, Ovid, Springer Database, Chinese Academic Journal, VIP Database and Wanfang database in the library literature, according to the inclusion criteria of diagnostic tests to screen documents, and extract the characteristic information included in the study. Using RevMan5.1 software to analysis the data, according the results of tests for heterogeneity to select the effects model and carry out meta analysis. **Results** According to the inclusion criteria, it was won the 23 articles eventually. The Meta analysis results showed the serum cys C levels of light asphyxia group and severe group were 1.66(1.35~1.97) and 3.78(3.23~4.34) times the standard deviation higher than the control group(healthy newborns) and the serum cys C levels of severe asphyxia group was 2.05(1.61~2.48) times the standard deviation higher than light asphyxia group, to explain that the serum cys C levels of neonatal asphyxia higher than healthy neonatal, and the more serious of neonatal asphyxia, the higher of the serum cys C levels. **Conclusion** the serum cys C levels contribute to the early diagnosis and severity assessment in kidney injury induced by Asphyxia newborn.

Key words: cysteine proteinase inhibitors; asphyxia neonatorum; kidney; meta-analysis

新生儿窒息是新生儿死亡、致残的主要原因之一,可引起多脏器功能损害,以肾损害发生率最高,且窒息越严重,肾功能损伤越严重。窒息后肾损害常缺乏典型的临床表现,目前临床上对新生儿肾功能的判断多依赖于尿量减少、血 BUN 和 Cr 的升高。由于新生儿的尿量不好测量,且窒息缺氧对新生儿肾脏的损害有一部分表现为非少尿型,因此根据少尿来判断肾功能损害不够准确。内源性指标如 BUN 和 Cr 的测定受蛋白摄入量、机体代谢水平及肾外因素等影响,因此在早期评价肾功能损伤的敏感度和准确性均不够理想。研究表明,胱抑素 C(cystatin C, cys C)可作为评价肾小球滤过率的指标且优于 BUN、Cr 等指标,为正确、科学地评价其在新生儿窒息早期肾脏损害的价值,本研究收集公开发表的相关文献进行了 Meta 分析。

1 资料与方法

1.1 检索策略 西文数据库包括:PubMed、Ovid 和 Springer 数据库;中文数据库包括:中国期刊全文数据库、万方数据库和维普数据库。检索发表的在库文献。英文检索词:asphyxia, neonatorum, cystatin C, renal injury。中文检索词:窒息,新生儿,胱抑素 C,肾损伤。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)以窒息新生儿为研究对

象;血清胱抑素 C 为评价早期损害的主要测量指标;(2)有明确的新生儿窒息的诊断标准,将窒息新生儿分为重度窒息与轻度窒息;(3)以健康新生儿为正常对照;(4)提供足够的资料以便 Meta 分析;(5)研究对象均为中国人。排除标准:(1)不符合上述纳入标准者;(2)数据信息不全,重复发表的文献;(3)会议论文、文献综述等。

1.3 纳入文献的筛选 由两名评价员独立阅读所获文献,在排除明显不符合纳入标准的文献后,阅读可能符合纳入标准的文献全文,以确定是否真正符合纳入标准。如遇到分歧通过讨论解决或咨询文献作者获取文献原始资料。

1.4 数据提取 提取各研究的发表信息,包括作者、发表时间等,纳入观察研究对象的诊断标准、检测方法、检测数据。

1.5 统计学处理 采用 RevMan5.1 系统评价软件进行 Meta 分析,将资料进行定量综合,首先进行同质性检验,并根据 P 值大小进行效应模型的选择,如果 $P > 0.05$,则选择固定效应模型;如果 $P < 0.05$,则选择随机模型。其次,计算合并效应量及平均效应的 95% 可信区间,计算合并检验统计量(Z)。

2 结果

2.1 纳入文献的基本情况 根据文献入选及排除标准,筛选获得符合要求并纳入本次系统综述的文献共 23 篇^[1-23],且均

为中文文献,共包括 2 119 例受试者,其中对照组 779 例,轻度窒息组 741 例及重度窒息组 599 例,提取纳入研究文献各组的例数,cys C 均值和标准差进行 Meta 分析。

2.2 同质性检验 (1)轻度窒息组与对照组 cys C 水平比较的 23 项研究 $\chi^2=141.10,df=22,P<0.01,I^2=84\%$,故采用随机效应模型;(2)重度窒息组与对照组 cys C 水平比较的 23 项研究 $\chi^2=197.61,df=22,P<0.01,I^2=89\%$,故采用随机效应模型;(3)重度窒息组与轻度窒息组 cys C 水平比较的 23 项研究 $\chi^2=215.17,df=22,P<0.01,I^2=90\%$,故采用随机效应模型。

Study or Subgroup	轻度窒息组		对照组		Weight	Std. Mean Difference IV, Random, 95% CI		
	Mean	SD	Mean	SD				
刘兰 2004	3.02	0.92	3.0	2.03	0.37	60	4.7%	1.81 [1.11, 2.11]
刘军 2010	1.9	0.42	2.0	1.02	0.17	40	4.1%	2.77 [2.03, 3.51]
刘瑞兰 2010	1.17	0.18	74	0.91	0.12	30	4.7%	1.56 [1.09, 2.04]
史清海 2006	3.92	0.61	3.0	2.55	0.39	25	4.1%	2.59 [1.86, 3.32]
周静林 2007	1.81	0.2	25	1.65	0.15	22	4.4%	0.88 [0.28, 1.48]
唐沂 2009	2.15	0.58	26	1.72	0.87	25	4.5%	0.57 [0.01, 1.14]
季坚卫 2007	1.69	0.38	34	1.26	0.24	25	4.5%	1.29 [0.72, 1.96]
徐海滨 2007	1.29	0.34	19	1.03	0.2	17	4.2%	0.90 [0.21, 1.59]
方明俊 2010	1.78	0.1	7.0	1.61	0.1	100	5.0%	1.69 [1.34, 2.05]
李雅雯 2011	1.27	0.26	24	0.94	0.15	16	4.1%	1.45 [0.73, 2.17]
杨娟 2009	2.37	0.47	41	1.7	0.25	40	4.8%	1.76 [1.24, 2.27]
梁胡贞 2011	1.69	0.22	24	0.59	0.24	35	3.7%	3.95 [3.04, 4.85]
王礼周 2005	2.06	0.24	19	1.74	0.11	16	4.0%	1.63 [0.85, 2.41]
王胜会 2008	1.17	0.18	37	0.91	0.12	15	4.2%	1.55 [0.87, 2.22]
吴芸芝 2011	1.31	0.29	28	1.01	0.19	20	4.4%	1.16 [0.54, 1.79]
廖小梅 2011	1.78	0.18	45	1.69	0.15	100	5.0%	0.56 [0.20, 0.92]
谢伟珍 2009	1.25	0.31	20	1.17	0.29	20	4.4%	0.26 [-0.30, 0.98]
郑位虎 2010	1.86	0.23	30	1.27	0.3	30	4.3%	2.18 [1.53, 2.83]
郭欣 2010	2.15	0.31	25	1.59	0.32	40	4.5%	1.78 [1.19, 2.37]
郭建忠 2010	1.97	0.33	46	1.24	0.35	30	4.5%	2.14 [1.56, 2.72]
韦海蓉 2009	1.11	0.26	20	0.76	0.14	31	4.3%	1.76 [1.10, 2.43]
李雅雯 2009	1.18	0.14	16	1.36	0.34	17	3.9%	1.63 [0.82, 2.43]
袁睿宇 2010	4	0.6	38	1.9	0.7	25	4.0%	3.23 [2.46, 4.01]
Total (95% CI)	741		779		100.0%			1.66 [1.35, 1.97]

Heterogeneity: Tau² = 0.48; Chi² = 141.10, df = 22 (P < 0.00001); I² = 84%
Test for overall effect: Z = 10.40 (P < 0.00001)

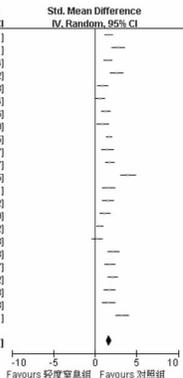


图 1 轻度窒息组新生儿组血清 cys C 水平与对照组的比较

2.3 Meta 分析结果

2.3.1 轻度窒息组与对照组 cys C 水平的 meta 分析结果 采用随机效应模型分析,合并标准化 cys C 均数 d 值为 1.66,平均效应的 95%CI:1.35~1.97,即轻度窒息组的 cys C 水平比对照组高 1.66(1.35~1.97)倍标准差,合并效应统计检验,差异有统计学意义(Z=10.40,P<0.000 01)。

2.3.2 重度窒息组与对照组 cys C 水平的 meta 分析结果 采用随机效应模型分析,合并标准化 cys C 均数 d 值为 3.78,平均效应的 95%CI:3.23~4.34,即重度窒息组的 cys C 水平比对照组高 3.78(3.23~4.34)倍标准差,合并效应统计检验,差异有统计学意义(Z=13.31,P<0.000 01)。

2.3.3 重度窒息组与轻度窒息组 cys C 水平的 meta 分析结果 采用随机效应模型分析,合并标准化 cys C 均数 d 值为 2.05,平均效应的 95%CI:1.61~2.48,即重度窒息组的 cys C 水平比轻度窒息组高 2.05(1.61~2.48)倍标准差,合并效应统计检验,差异有统计学意义(Z=9.20,P<0.000 01)。

3 讨 论

新生儿窒息后血流动力学紊乱,导致肾组织缺血,肾小球滤过率下降;能量代谢障碍、胞质内游离钙离子增加、肾局部 NO 堆积过多及细胞间粘附分子合成和表达增强均可损伤肾组织,使肾小球滤过率进一步下降,导致少尿、无尿、蛋白尿、管型尿及血尿,甚至急性肾功能衰竭。与肌酐相比,血清 cys C 稳定性好,灵敏度高,炎症反应、肿瘤、肌肉活动以及饮食等因素影响,而且刘兰等^[24]研究表明,新生儿血中 cys C 大部分是来自自身,受母体的影响少。因此血清 cys C 是一种较为理想的反应新生儿 GFR 的内源性标志,为研究新生儿期的肾功能损害提供了新的依据。因不同种族,不同年龄的人其值有所不同,所以本研究只选取了中国人为研究对象。

传统的文献综述常受个人主观判断影响,或趋同于个别权威的试验结果,而缺乏综合分析的定量指标,不能很好地解决研究结果间不一致性问题。Meta 分析是对具有相同研究目的

的多个独立研究结果进行系统的定量统计综合分析与评价的一种研究方法,是对文献资料的再分析。其达到增大样本量、提高检验功效的目的,得到更接近真实情况的综合结果,是循证医学进行系统综述的基本方法之一。本研究通过此统计方法,对窒息新生儿血清胱抑素 C 水平变化进行分析,以求得到更加精确、有效的结果,以指导临床对窒息新生儿早期肾功能变化的检测。

由本研究结果表明轻度窒息组的血清 cys C 水平比对照组(即健康新生儿)高 1.66(1.35~1.97)倍标准差;重度窒息组的血清 cys C 水平比对照组(即健康新生儿)高 3.78(3.23~4.34)倍标准差,而重度窒息组的血清 cys C 水平比轻度窒息组的血清 cys C 水平高 2.05(1.61~2.48)倍标准差,说明窒息新生儿比健康新生儿的血清 CysC 水平高,且由结果知新生儿窒息程度越严重,血清 cys C 水平越高,即重度窒息组>轻度窒息组>对照组(即健康新生儿)。血清 cys C 是目前比较理想的内源性肾小球滤过率标志物,其值越高,说明肾功能损伤越严重。因此,新生儿窒息程度越严重,血清 cys C 水平越高,肾功能损伤越严重。

本研究结果的局限性:(1)因有报道显示,不同种族人体内产生血清 cys C 水平不同,所以本文只选取了中国新生而作为研究对象,未对其他国家,不同种族的人群进行分析和比较;(2)研究的所有文献虽然都有明确的诊断和分级标准,但毕竟使用的标准不一致,总有一定的偏差;(3)本研究只收集了列出的数据库的在库文献,未扩大检索范围,特别是应当手工检索灰色文献。

综上所述,窒息新生儿血清 cys C 水平随着窒息严重程度不同,有不同程度的升高,提示临床可以根据血清 cys C 水平的程度去判断窒息新生儿是否存在肾功能损伤以及对窒息引起的肾功能损伤的程度,预测病情的发展,同时动态监测血清 cys C 水平对窒息新生儿早期肾功能损伤的治疗及预后有一定的临床指导意义。

参考文献

- [1] 刘兰,夏传雄,周明琪,等.围产期窒息新生儿血清胱抑素 C 的变化及临床意义的研究[J].中华围产医学杂志,2004,7(6):370-371.
- [2] 刘军,李霞.血清胱抑素 C 对窒息新生儿早期肾功能损害的诊断价值[J].中国优生与遗传杂志,2006,18(8):74-94.
- [3] 刘瑞兰.血清胱抑素 C 对新生儿窒息后肾损伤的诊断价值探讨[J].内蒙古医学杂志,2010,42(4):389-391.
- [4] 史清海,古丽娜,路西春.血清胱抑素 C 测定对新生儿窒息后肾功能损伤的评价[J].中国小儿急救医学,2006,13(4):373-374.
- [5] 周娇妹,卢芳芳,林建军.血清胱抑素 C 对窒息新生儿肾损伤的早期诊断价值[J].临床医学,2007,27(12):83-84.
- [6] 唐沂,陈兰珍,余幸儿,等.新生儿窒息后肾功能损害的早期指标分析[J].中国儿童保健杂志,2009,17(3):364-366.
- [7] 季坚卫,龚丽梅,朱璐卡.窒息新生儿血清胱抑素 C 的测定及临床意义[J].临床和实验医学杂志,2007,6(6):121.
- [8] 徐海滨,马飞驹,徐茜茜,等.血清胱抑素 C 对窒息新生儿肾功能损伤的诊断评价[J].浙江实用医学,2008,12(6):432-440.
- [9] 方明俊,张薇,俞全胜,等.血清胱抑素 C 检测对新生儿窒息患儿肾功能评估的临床意义[J].临床儿科杂志,2010,28(8):752-754.
- [10] 李雅雯,王晓蕾,王昌林,等.血清胱抑素 C 在新生儿窒息后肾损伤早期诊断中的价值[J].新乡医学院学报,2011,28(4):479-480.
- [11] 杨娟,钱玮和,韩雪花,等.窒息新生儿血清胱抑素 C 水平的变化及意义[J].实用医学杂志,2009,25(16):2712-2713.
- [12] 梁胡贞,肖芳扬,陈国华.血清胱抑素 C、 β_2 微球蛋白(下转第 1804 页)

稳定期到转移期,稳定期 PLT 正常为 9 例,占 69.2%,PLT 升高 4 例,占 30.8%;B 超和 CT 检查后,提示发生淋巴结转移,转移期 PLT 正常为 3 例,占 23.1%,PLT 升高 10 例,占 76.9%,稳定期与转移期血小板值差异有统计学意义($P < 0.05$)。有此可见患者术后 PLT 增高多可预示癌症的进展和侵袭,见表 3。

表 2 早、晚期卵巢癌手术前、后 PLT 计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	术前 PLT 计数($\times 10^9/L$)	术后 PLT 计数($\times 10^9/L$)	P
早期组	243.66 \pm 82.97	158.66 \pm 52.30	<0.05
晚期组	315.66 \pm 125.4	215.66 \pm 96.41	<0.05

表 3 卵巢癌稳定期与转移期 PLT 计数比较[n(%)]

指标	PLT 正常	PLT 增高
稳定期	9(69.2)	4(30.8)
转移期	3(23.1)	10(76.9)

3 讨论

卵巢癌早期症状不明显,就诊时多为晚期,病死率高,居妇科恶性肿瘤首位。PLT 计数是临床上常用的检查指标,操作简便,成本低,若能通过对 PLT 计数的研究对早期发现卵巢肿瘤,并对病程进行评估对临床有重要的意义。

文献报道^[4],卵巢癌患者多伴有不同程度的血小板增多,临床分期越高,血小板增多发生率越高。本资料表 1 显示 74 例卵巢癌患者,其中早期(I、II)36 例,晚期(III、IV)38 例,良性对照组 68 例。早期卵巢癌组、晚期卵巢癌组和对对照组间 PLT 计数两两比较均有统计学意义($P < 0.05$)。卵巢癌 PLT 升高者 24 例,占 32.4%,基本符合梁致怡等^[5]报道的卵巢肿瘤 PLT 增多的发生率 30.77%与肿瘤的良、恶性有关,并常见于晚期。从结果 2 早期组和晚期组看出,手术治疗前后 PLT 计数明显下降,说明 PLT 计数可提示手术治疗是否有效。本文资料显示 13 例经标准治疗后由稳定发展至转移的患者,稳定期与转移期血小板值差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 PLT 水平增高可预示肿瘤病情的发展,可作为评估病情的辅助指标,同时,也提示血小板增多可促进肿瘤的发展。

Crasta 等^[6]报道 PLT 增高的肿瘤患者预后不好,PLT 释放的因子与原发肿瘤的转移、侵袭和生长有关,但机制尚未得到确切的解释。(1)恶性肿瘤细胞自身产生的白细胞介素-6^[7],血小板生成素等体液介质刺激可造成 PLT 升高和活化。(2)活化的 PLT 可以显著增强肿瘤细胞与内皮细胞、细胞外基质的黏附^[8];PLT 的聚集可以导致内皮细胞的收缩,从而有利

于肿瘤细胞向血管外移行。(3)PLT 可聚集在肿瘤细胞周围,保护肿瘤细胞免受血液切力的破坏和机体免疫的攻击^[8]。(4)血小板还参与肿瘤周围组织的降解。PLT 本身随着临床分期升高,可释放更多的小血小板内皮细胞生长因子(PD-ECGF)、转化生长因子 β (TGF- β),这些因子有强烈的有丝分裂性,促进肿瘤在转移灶部位的克隆和生长^[10],因此晚期患者血小板增多的伴发率明显高于早起患者。

综上所述,卵巢癌与血小板增多具有一定的相关性,肿瘤细胞本身可促进血小板的增多,反过来血小板又可以促进肿瘤细胞增殖与转移,形成恶性循环。卵巢癌特别是晚期卵巢癌 PLT 计数可提示疾病的发展与恶化,PLT 计数增高是肿瘤侵袭行为的一个标志。对于卵巢癌的高危人群,尤其伴发不明原因血小板增多者应进一步检查,密切随访。

参考文献

- [1] Bambace NM, Holmes CE. The platelet contribution to cancer progression[J]. *Thromb Haemost*, 2011, 9(2): 237-249.
- [2] Sucak A. The role of thrombocytosis in prognostic evaluation of epithelial ovarian tumors[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2009, 279(1): 53-56.
- [3] 马爽,童英. 妇科恶性肿瘤与血小板增多的关系[J]. *医学综述*, 2012, 18(10): 1489-1492.
- [4] Soonthornthum T, Suraseraneewong V. Thrombocytosis in advanced epithelial ovarian cancer[J]. *J Med Assoc Thai*, 2007, 90(8): 1495-1500.
- [5] 梁致怡,张虹. 卵巢上皮性癌和血小板计数增高相关性分析[J]. *中国肿瘤临床*, 2008, 35(13): 729-735.
- [6] Crasta JA, Premalatha TS, Krishnan SM, et al. Significance of pre-operative thrombocytosis in epithelial ovarian cancer[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2010, 53(1): 54-56.
- [7] Gastl G, Plante M. Bioactive interleukin-6 levels in serum and ascites as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Methods Mol Med*, 2001, 39(1): 121-123.
- [8] Borsig L. The role of platelet activation in tumor metastasis[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2008, 8(8): 1247-1255.
- [9] Gungor T, Tsuruo T, Fujita N. Platelet aggregation in the formation of tumor metastasis [J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2008, 84(6): 189-198.
- [10] Lee M, Kim SW, Nam EJ, et al. The impact of pretreatment thrombocytosis and persistent thrombocytosis after adjuvant chemotherapy in patients with advanced epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 122(2): 238-241.

(收稿日期:2012-12-10)

(上接第 1802 页)

白检测对新生儿窒息肾损害评价的临床应用[J]. *吉林医学*, 2011, 32(17): 3408-3410.

- [13] 王礼周,陈新德,袁可,等. 血与尿胱抑素 C 对窒息新生儿肾功能的诊断价值[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2008, 6(2): 98-100.
- [14] 王胜会,董文斌,郭琳,等. 血清胱抑素 C 水平在新生儿窒息后肾损伤中的诊断价值[J]. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23(6): 452-453.
- [15] 莫云芝,马利平. 窒息新生儿血清胱抑素 C 水平变化及与 BUN、SCr 的相关性[J]. *山东医药*, 2011, 51(43): 79-80.
- [16] 覃小梅,谭晓明,曾显媛. 胱抑素 C 与肾功能检测在新生儿窒息诊断中的应用[J]. *海南医学*, 2011, 22(11): 124-125.
- [17] 谢怀珍,董传莉,张兰,等. 血清胱抑素 C 对新生儿窒息后肾损伤的诊断[J]. *中华全科医学*, 2009, 7(12): 1299-1300.
- [18] 郑俊虎,郑骆颖,潘益匆,等. 窒息新生儿血清胱抑素 C 动态变化及临床意义探讨[J]. *中国医师杂志*, 2010, 12(8): 1124-1125.

- [19] 郭欣,徐兆珍,李晓光,等. 窒息新生儿血清胱抑素 C 的变化及意义[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2010, 44(6): 593-594.
- [20] 郭继忠,房晓炜,林宽阳. 血清胱抑素 C 水平对新生儿窒息肾功能损伤的评价作用[J]. *中国医师进修杂志*, 2010, 33(36): 20-22.
- [21] 韦海春. 应用 ROC 曲线评价血清胱抑素 C 对窒息新生儿肾功能损害的诊断价值[J]. *中国实用医药*, 2009, 4(10): 16-17.
- [22] 韦秋芬,潘新年,范歆,等. 血清胱抑素 C 在窒息新生儿肾功能损害早期诊断中的临床意义[J]. *右江民族医学院学报*, 2009, 31(6): 1037-1038.
- [23] 黄荣宁,苏萍,谭晓明,等. 窒息新生儿血清胱抑素 C 测定及临床意义[J]. *中国实用医刊*, 2010, 37(23): 41-42.
- [24] 刘兰,周明琪,王霞. 健康围生期妊娠妇女及新生儿血清胱抑素 C 的变化[J]. *新生儿科杂志*, 2004, 19(1): 23-24.

(收稿日期:2012-12-08)