

冠動脈閉塞直後に微小循環からの血液搾出はあるか：リアルタイム心筋コントラストエコー図法による検討

Is Blood Squeezed Out From the Microcirculation Soon After Coronary Occlusion?: Real Time Myocardial Contrast Echocardiographic Study

大谷健太郎
別府慎太郎
荊木 香織
宮西佐代子
柏木 寧
茅野 博行
石藏 文信

Kentaro OTANI, BS
Shintaro BEPPU, MD, FJCC
Kaori IBARAKI, BS
Sayoko MIYANISHI, BS
Yasushi KASHIWAGI, BS
Hiroyuki KAYANO, MD
Fuminobu ISHIKURA, MD, FJCC

Abstract

Background and Objectives. The fate of blood trapped inside the myocardial microvessels after complete occlusion of the coronary artery has not been elucidated. Blood may be squeezed out by residual contraction even after coronary occlusion. The microcirculation was examined soon after coronary occlusion by real-time contrast echocardiography.

Methods. Myocardial opacification in the short-axis view was examined during infusion of FS69 (Optison) using the Coherent Contrast Imaging method (SIEMENS Sequoia 512) in 17 open chest dogs. The left circumflex coronary artery was completely ligated for 15 sec and the video intensity (256 gray level) of the risk area was measured at end-systole of every 3 beats before and after ligation. Temporal deterioration of the wall motion was evaluated, defined as normokinesis, mild hypokinesis and severe hypokinesis, and akinesis. Changes in the video intensity during each stage of wall motion abnormalities were examined.

Results. The video intensity of the risk area decreased significantly after coronary occlusion. Wall motion of the risk area deteriorated gradually after ligation, in which mild hypokinesis, severe hypokinesis and akinesis developed consecutively at 2.8 ± 0.5 , 5.4 ± 0.5 and 7.8 ± 0.8 sec after coronary ligation, respectively. The changes in video intensity during each stage of the wall motion abnormalities were small and not statistically significant, irrespective of severity of wall motion abnormalities.

Conclusions. These findings suggest that the blood remains in the vascular bed immediately after the coronary occlusion and is not squeezed out even if wall motion of the risk area continues.

J Cardiol 2003 Jan; 41(1): 13-19

Key Words

- Contrast echocardiography
- Microcirculation
- Coronary circulation
- Experimental medicine

はじめに

超音波検査法は非侵襲的かつ簡便に行え、リアルタ

イムで画像が得られることから、循環器領域をはじめとしてさまざまな領域で広く活用されている。また、超音波造影剤である微小気泡の血液中での動態は、赤

大阪大学医学部 保健学科: 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-7
School of Allied Health Sciences, Osaka University, Faculty of Medicine, Osaka

Address for correspondence: OTANI K, BS, School of Allied Health Sciences, Osaka University, Faculty of Medicine, Yamadaoka 1-7, Suita, Osaka 565-0871

Manuscript received July 18, 2002; revised November 5, 2002; accepted November 5, 2002

BS = bachelor of science

血球のそれと非常に似ていることが確認されており^{1,3)}、このことから心筋コントラストエコー図法における心筋染影の定量的な評価により、心筋内血液量の動態の評価が可能であると考えられてきた。近年、各種経静脈性超音波造影剤⁴⁾の登場、ハーモニック法などの技術的な革新により、微小気泡の超音波音圧に対する脆弱性^{5,6)}を克服し、組織灌流や組織性状の観察が可能となってきている⁷⁾。ただし、我が国で臨床使用可能なレボピストム[®]では高音圧照射、間欠送信法^{8,10)}が必須であり、そのため心筋の壁運動などの心臓の状態をリアルタイムで観察することができない。しかし、第二世代の超音波造影剤と超音波装置側の技術的な進歩によって、低音圧照射、連続送信法を用いた心筋コントラストエコー図法が可能となった。今後、心筋コントラストエコー図法により、冠動脈狭窄や閉塞部位を、リアルタイム観察下での心筋灌流や壁運動異常から同定できる可能性がある。

冠動脈の閉塞により冠動脈の血流は速やかにゼロになるが、冠静脈洞の血流はまだ保たれ、しばらくしてゼロになることが過去のドップラー法を用いた検討により報告されており、このことから心筋内の blood capacitance の存在が推測されている¹¹⁾。

目 的

冠動脈閉塞により局所壁運動異常が生じるが、瞬時に異常になるのではない。閉塞に伴ってその末梢の冠動脈内血液は捕捉されるであろうが、閉塞直後には壁運動異常の程度も軽く、冠静脈の血流はこの壁運動により保たれている可能性もある。しかしその詳細は、方法論的制約もあり未解決である。本研究の目的は、リアルタイム心筋コントラストエコー図法を用い、急性冠動脈閉塞中の心筋染影動態とその支配領域の壁運動異常を経時的に対比して、冠動脈閉塞後の微小循環からの血液搾出の有無について検討することである。

対象と方法

冠動脈完全閉塞中の心筋染影輝度の時間的経過を検討するうえで、装置側の条件による影響をあらかじめ検討しておく必要がある。ここでは、冠動脈閉塞後の心筋染影度に対して、フレームレート、超音波音圧、造影剤投与量の影響を予備実験として検討した。

1. 実験の設定

実験用ビーグル犬を対象とし、末梢静脈ルートを確認後、ペントバルビタールナトリウム(35 mg/kg)を急速注入し、麻酔した。持続麻酔はペントバルビタールナトリウムを約400 mg/hrで末梢静脈ルートより持続注入した。気管挿管後ハーバード型レスピレーター(シナノ製作所 RESPIRATOR MODEL SN-480-3)により呼吸管理し、同時に心電図をモニターした。イヌを仰臥位に固定し、大腿動脈からピッグテールカテーテルを、大腿静脈から Swan-Ganz カテーテルを挿入し、動脈圧と肺動脈圧・右房圧をそれぞれモニターした。臭化パンクロニウム2 mgを静脈注入後、左第5肋間に沿って開胸し、切開した心膜を支持架として心臓を固定した^{10,12)}。左回旋枝を剥離し、冠動脈完全閉塞のための pneumo occluder を取り付け、冠血流遮断を確認するために、そのすぐ末梢側に超音波血流計(Transonic Systems Inc., Animal Research Flowmeters 型名 T106)の Flow Probe を装着した。

2. 心筋コントラストエコー図法とその解析

心臓に約1 cm厚の超音波診断用含水性伝達媒質ソナーエード(Geistlich-Pharma)を置き、SIEMENS製の超音波診断装置 Sequoia 512の3V2c探触子により送信周波数1.75 MHz、受信周波数3.5 MHzのハーモニック法を利用した Coherent Contrast Imaging 法¹³⁾を用い乳頭筋レベル左室短軸像を描出した。焦点は左室中央に、ゲインや視野深度はそれぞれのイヌに最適条件とし、実験終了までは条件を変更しなかった。

超音波造影剤として、10倍希釈した FS69(Optison)を末梢静脈ルートより持続注入した。左回旋枝完全閉塞直前から閉塞後約15秒までのエコー像をS-VHSビデオテープに記録した。

輝度解析には日本光電製 Color Cardiology Work Stationを用いた。ビデオテープ画像からオフラインで、左回旋枝完全閉塞前から完全閉塞後連続して3心拍ごとの収縮末期像を21フレーム分取り込み(約8.2秒に相当)、関心領域を左前下行枝の支配領域である心室中隔と左回旋枝の支配領域である左室側壁に設定し、それぞれの心筋染影度をグレースケール256階調で輝度解析した(Fig. 1)。



Fig. 1 Myocardial contrast echocardiogram during occlusion of the left circumflex coronary artery
The short-axis view of the left ventricle shows the area at risk (two arrows).

3. 対象イヌの選択

閉塞冠動脈領域に他の冠動脈からの側副血行路が存在すると、冠動脈閉塞中であっても灌流がなされてしまい、当検討に影響すると思われる。それゆえ、側副血行路のないイヌを対象とするために、つぎの方法で側副血行路の有無の評価を行った。まず、リアルタイム心筋コントラストエコー図法を施行し、十分な染影が得られたところで左回旋枝の完全閉塞を行った。その後、短時間の高音圧照射を行った。これにより、全心周性に心筋内の微小気泡は破壊される。その後、再びリアルタイム心筋コントラストエコー図法で用いる低音圧照射に戻すと、対照領域である左前下行枝領域は速やかに染影されていく。このとき同時に左回旋枝領域を観察すると、側副血行路がある症例では染影が確認される。側副血行路がない症例では染影されず、また速やかに左室側壁に壁運動異常が生じる。本研究ではこの方法により左室側壁に染影を認めず、また同時に高度な壁運動異常が認められたイヌを対象とした。

4. 心筋染影に対する音圧と造影剤投与量の影響

4頭のイヌ(平均体重 12.2 ± 2.0 kg)を対象として、フレームレートを 20/sec とし、mechanical index (MI) を 0.1 (- 21 dB), 0.2 (- 18 dB), 0.3 (- 15 dB) の3通り、造影剤投与量を 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ml/min の4通りに

変化させた際の心筋染影性をまず検討した。

5. 心筋染影に対するフレームレートの影響

6頭のイヌ(平均体重 11.1 ± 1.9 kg)を対象とした。フレームレートが変わると冠動脈閉塞後の心筋染影度に影響する可能性がある。そのため、超音波装置、造影剤は前述とあり、投与量は 0.2 ml/min、音圧は MI 値 0.1 (- 21 dB) に固定し、フレームレートを 10, 20, 40/sec と変化させて、冠動脈閉塞後の心筋染影度の経時変化を健常部と対比検討した。

6. 左回旋枝完全閉塞中の心筋染影輝度と壁運動異常との対比

7頭のイヌ(平均体重 11.5 ± 2.2 kg)を対象とした。実験の設定条件は、MI 値 0.1、投与量 0.2 ml/min、フレームレート 20/sec とした。

ビデオテープに記録したエコー像から、左回旋枝完全閉塞後の左室側壁の壁運動を正常収縮、軽度低収縮、高度低収縮、無収縮の4段階^{14, 16)}で評価し、各段階の壁運動異常が明確になった時点を冠動脈閉塞後からの心拍数および秒数で測定した。壁運動異常の推移進展は連続的であり、明確にはタイミングを同定できないので、延べ3回測定した平均値を異常運動出現時とした。

正常収縮を含めた4段階それぞれの壁動態に対応する心筋染影輝度を求めた。また、同一種類の壁運動異常間での前後3心拍における輝度変化を求め、壁運動異常の程度により輝度変化が異なるかを検討した。

7. 統計処理

測定値の群間比較の検定は対応のある *t* 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差の判定とした。

結 果

1. 音圧と投与量の影響

冠血流遮断前の心筋染影輝度に対する送信音圧および造影剤投与量の影響を Fig. 2 に示す。造影剤投与量に応じて心筋染影輝度は上昇した。MI 値が 0.1 や 0.2 ではいずれの投与量でも十分な心筋染影輝度が得られたのに比べて、MI 値が 0.3 では投与量が少ないときには心筋染影が弱く、超音波による気泡崩壊の影響が示唆された。それゆえ、主検討では最も気泡の崩壊の影

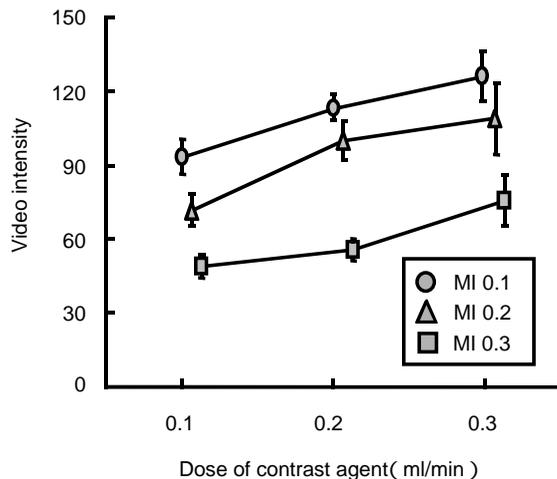


Fig. 2 Video intensity of the lateral wall opacification during real time contrast echocardiography

The intensity increased depending on the dose of contrast agent. Low intensity at high acoustic power suggested bubble destruction. MI = mechanical index.

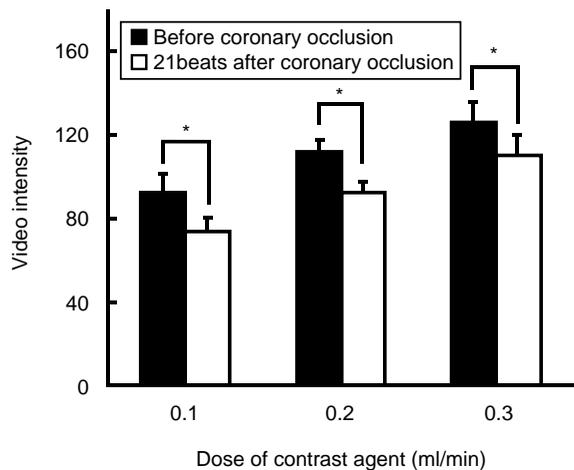


Fig. 3 Video intensity of the lateral wall opacification before and 21 beats after coronary occlusion

The intensity decreased significantly 21 cardiac beats after occlusion at any dose of contrast agent. Dose dependency of opacification was identical before and after coronary occlusion (* $p < 0.05$).

響が少ないと考えられるMI値0.1に固定した。

冠動脈閉塞直前と閉塞21心拍後の心筋染影度に対する造影剤投与量の影響をみたのがFig. 3である。冠動脈閉塞後の心筋染影輝度は造影剤投与量に応じ高かった(冠動脈閉塞前; 0.1 ml/min: 92.3 ± 8.7 , 0.2 ml/min: 112.5 ± 5.3 , 0.3 ml/min: 126.0 ± 9.6 , 冠動

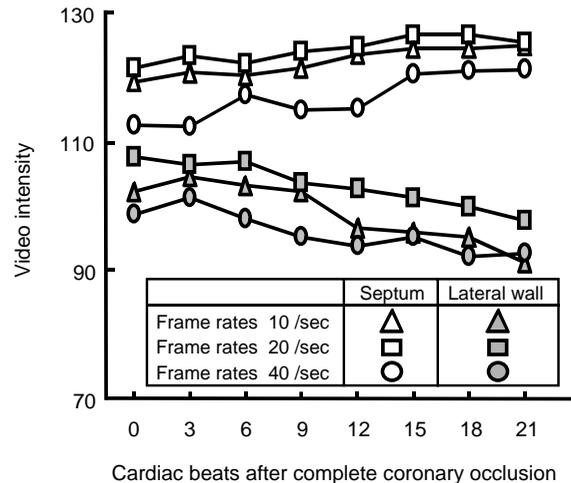


Fig. 4 Temporal changes in the video intensity in the ventricular septum and the lateral wall

The intensity of the lateral wall decreased gradually, whereas that of the septum was constant throughout the procedure at any frame rate.

脈閉塞後; 0.1 ml/min: 73.4 ± 6.6 , 0.2 ml/min: 92.3 ± 4.8 , 0.3 ml/min: 110.4 ± 10.0). いずれの造影剤投与量においても, 冠動脈完全閉塞後は心筋染影輝度は有意に低下した. 投与量による特別な差異はなかったため, 主検討では0.2 ml/minの投与を行った.

2. フレームレートの影響

フレームレートを変化させたときの, 左回旋枝完全閉塞中の心室中隔および左室側壁の心筋染影の経時変化をFig. 4に示す. 健常部分は染影性に経時変化がないのは当然であるが, 閉塞冠動脈支配領域では徐々に染影輝度が低下した. また, これらの所見はフレームレートに関係しなかった. この結果, フレームレート20/secでもリアルタイム性は十分と考えられたため, 壁運動異常との対応を検討するための実験はフレームレート20/secに固定して行った.

3. 冠動脈閉塞に伴う壁運動異常出現と染影輝度

左回旋枝完全閉塞後の壁運動異常は, 軽度低収縮が7.8心拍後(2.8 ± 0.5 秒後), 高度低収縮が15.1心拍後(5.4 ± 0.5 秒後), 無収縮が21.9心拍後(7.8 ± 0.8 秒後)に観察された. 心筋染影は冠動脈閉塞後, 順次低下したが, 壁運動異常の各段階間ではその3心拍の間でほとんど変化がみられず, 閉塞直後の壁運動異常がまだ生じない正常運動時においても血液供給が途絶され

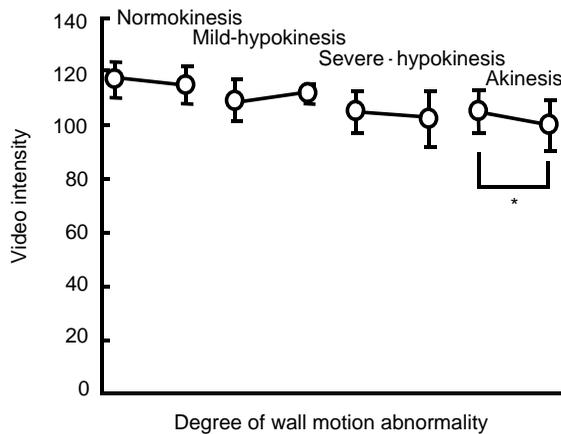


Fig. 5 Change in the video intensity during three cardiac beats at various wall motion abnormalities

The change was small at any degree of wall motion abnormalities, indicating independence from the wall motion (* $p < 0.05$)

ているにもかかわらず、有意な輝度の低下がみられなかった(Fig. 5)。逆に無収縮時に、心筋染影の低下度は非常に低値であったものの、その差は統計的には有意であった。しかしながら、各壁動態における3心拍の間での心筋染影の変化度は、いずれの壁動態間においても有意な差は認められなかった。

考 察

一般に、冠血流は動脈血が拡張期に心筋内へ流入し、心筋内静脈血が収縮期に流出する。さらに心筋内の冠動脈では収縮期に若干の逆流がみられ、これは拡張期に心筋内に蓄えられた血液が心筋収縮によって搾出されるためといわれており¹⁷⁾、このことから心筋内 blood capacitance の存在が推測される。このように心筋収縮が冠血流動態に影響することから、冠動脈閉塞によって冠血流が途絶した場合でも、壁運動が無収縮にならない限り何らかの影響があるのではないかと予想される。この状況を検討するにはリアルタイム心筋コントラストエコー図法が好都合のように思われた。実際、本研究において冠動脈を閉塞しても心筋染影が保たれていたことから、心筋内 blood capacitance の存在が心筋コントラストエコー図法においても確認されたと考えられる。

しかし、リアルタイム心筋コントラストエコー図法の経験は世界的にも未熟であり、装置の条件設定や造影剤投与量により心筋染影性が影響される可能性があ

り、その検討から始めた結果、極低音圧での観察ではフレームレートに依存することなく正確な輝度評価ができることがわかった。閉塞後は対照部位である健常部に比べて、明らかに染影輝度は低下した。これは投与量を変化させても、同様の結果であるので普遍的な事実であると考えられた。

血流遮断部位で染影輝度が経時的に低下する事実は、残存した心拍動に応じた微小循環からの血液搾出と考えられたが、冠動脈閉塞後の壁運動異常の程度との対比検討から判断すると、否定的である。すなわち、閉塞直後の壁運動異常がほとんどみられない場合でも輝度低下はほとんどなく、むしろ無収縮の場合にわずかではあるが有意な低下がみられたことは、壁運動とは関係のない現象と考えるほうが良い。

壁運動とは関係なく染影輝度が低下する理由は何か。これには二つのことが考えられる。一つは心臓全体の収縮拡張運動、ないし心内圧変化が関係し、少量ずつ血液が開放している静脈側へ流出する可能性、もう一つは低音圧といえども残留微小気泡に作用して崩壊させている可能性である。In vitro の実験では、第二世代の超音波造影剤ですら低音圧照射で気泡数の減少と反射輝度の減少がみられる¹⁸⁾。すなわち、単に気泡の崩壊をとらえたものかもしれない。

それでは、閉塞冠動脈の末梢の血液はまったく不動かということ、それに対する検討は不完全である。実際には心拍動に応じて収縮期に静脈側に搾出され、拡張期には静脈側から逆流し戻るのかもしれない。この検討には、心筋染影の心周期変動の解析や冠静脈側の血流量計測によるさらなる検討が必要と考えられる。また、本研究において壁運動が無収縮のときにのみ心筋染影が有意に低下したが、このことはこのような心拍動に応じた心筋内での血液の動きによって生じたとも考えられる。つまり、壁運動がまだ残存している状態では、心拍動に応じて超音波照射野外から超音波照射野内へ微小気泡を含んだ血液が移動することが考えられる。そのため、壁運動が残存しているときには3心拍の間で輝度変化にバラツキが生じ、心筋染影の有意な低下がみられなかったが、壁運動が消失した状態ではこの血液の移動がなくなるため、気泡の崩壊による心筋染影の有意な低下が起きたのかもしれない。

いずれにしろ、冠動脈が閉塞されると、その直後から末梢の血管系での血液は静脈側への往復運動はある

かもしれないが、血液量としてはほとんど保持されることが明らかとなった。また、超音波造影剤は前述のとおり超音波に対して脆弱であり、超音波の音圧を変化させることで崩壊の調節が可能である。これらの事実から、将来冠動脈末梢もしくは心筋細胞へ選択的に薬剤を投与する場合に、薬剤や遺伝子で修飾した、またはそれらを含有した超音波造影剤を投与し、バルーンなどでその中枢側を意図的に閉塞すれば、その間は超音波造影剤が流失することなく局所に停留し、そこ

で超音波により気泡を崩壊させることで局所選択的に薬剤や遺伝子を放出することが期待できる。

結 語

冠動脈の完全閉塞により壁運動は徐々に悪化する。しかし、壁運動異常の程度とは無関係に、その支配領域の心筋染色輝度は徐々に低下する。冠動脈が完全閉塞すると、その末梢に存在した血液は心筋内血管床に停留し、壁運動では排出されない。

要 約

背景・目的: 冠動脈閉塞後の心筋微小血管内の血液は、高度壁運動異常が生じるまでは壁運動によって静脈側へ搾出されている可能性があるが、詳細は未解決である。本研究の目的はリアルタイム心筋コントラストエコー図法を用い、冠動脈完全閉塞直後から壁運動異常発生に伴って心筋染色がどのように変化するかを、経時的に検討することにある。

方 法: 麻酔開胸犬を用い、SIEMENS製超音波装置Sequoia 512, 3V2cプローブ(送信周波数1.75MHz, 受信周波数3.5MHz)を用いて乳頭筋レベル左室短軸像を描出した。超音波造影剤FS69 (Optison)を持続静脈注入し、左回旋枝完全閉塞直前から閉塞後約15秒までのその支配領域である左室側壁の壁運動と心筋染色輝度の変化を検討した。設定条件は、低音圧(mechanical index = 0.1), 投与量0.2ml/min, フレームレート20/secとした。壁運動が正常収縮から軽度低収縮, 高度低収縮, 無収縮と順次推移する時期と、それぞれの段階の3心拍間での心筋染色輝度の低下度を評価した。

結 果: 冠動脈完全閉塞後21心拍目の心筋染色輝度は閉塞前に比べて有意に低下した。冠動脈完全閉塞後、軽度低収縮, 高度低収縮, 無収縮がそれぞれ平均 2.8 ± 0.5 , 5.4 ± 0.5 , 7.8 ± 0.8 秒後に観察された。各レベルの壁運動異常内では心筋染色輝度低下度は僅少であり、正常収縮中でも輝度の有意な低下はみられなかった。

結 語: 壁運動異常の程度により心筋染色輝度の低下に著明な差異がないことから、全経過を通じての輝度低下は血液搾出が原因ではなく、低音圧であっても閉塞中持続して超音波に曝されることによる気泡崩壊が原因と考えられる。冠動脈が完全閉塞すると、その末梢に存在した血液は心筋内血管床に停留し、壁運動では搾出されないことが明らかになった。

J Cardiol 2003 Jan; 41(1): 13 - 19

文 献

- 1) Keller MW, Segal SS, Kaul S, Duling B: The behavior of sonicated albumin microbubbles within the microcirculation: A basis for their use during myocardial contrast echocardiography. *Circ Res* 1989; **65**: 458 - 467
- 2) Jayaweera AR, Edwards N, Glasheen WP, Villanueva FS, Abbott RD, Kaul S: In vivo myocardial kinetics of air-filled albumin microbubbles during myocardial contrast echocardiography: Comparison with radiolabeled red blood cells. *Circ Res* 1994; **74**: 1157 - 1165
- 3) Ismail S, Jayaweera AR, Camarano G, Gimple LW, Powers ER, Kaul S: Relation between air-filled albumin microbubble and red blood cell rheology in the human myocardium: Influence of echocardiographic systems and chest wall attenuation. *Circulation* 1996; **94**: 445 - 451
- 4) 森安史典: 超音波診断における造影剤の近況. 画像診断 1998; **18**: 623 - 628
- 5) 別府慎太郎: 気泡の振る舞い. *in* 心筋コントラストエコー法: 経静脈性のknow how(別府慎太郎 編), 第1版. 文光堂, 東京, 2000; pp 29 - 30
- 6) 神山直久: 気泡の物理学. *in* 心筋コントラストエコー法: 経静脈性のknow how(別府慎太郎 編), 第1版. 文光堂, 東京, 2000; pp 35 - 37
- 7) Mulvagh SL, DeMaria AN, Feinstein SB, Burns PN, Kaul S, Miller JG, Monaghan M, Porter TR, Shaw LJ, Villanueva FS: Contrast echocardiography: Current and future applications. *J Am Soc Echocardiogr* 2000; **13**: 331 - 342
- 8) Porter TR, Xie F, Kricsfeld D, Armbruster RW: Improved

- myocardial contrast with second harmonic transient ultrasound response imaging in humans using intravenous perfluorocarbon-exposed sonicated dextrose albumin. *J Am Coll Cardiol* 1996; **27**: 1497 - 1501
- 9) 別府慎太郎: 間歇送信法をいかに活かすか. *心エコー* 2000; **1**: 270 - 276
- 10) 浜田聡明, 別府慎太郎, 石蔵文信, 上田宏昭, 柏木寧, 矢倉佐知子, 松下恵介, 小林春香: 経静脈性心筋コントラストエコー法における間歇送信法のための同期時相設定に関する検討. *J Med Ultrasonics* 2000; **27**: 1037 - 1041
- 11) Chilian WM, Marcus ML: Coronary venous outflow persists after cessation of coronary arterial inflow. *Am J Physiol* 1984; **247**: H984 - H990
- 12) 小林春香, 別府慎太郎, 石蔵文信, 上田宏昭, 松下恵介, 柏木寧, 矢倉佐知子, 浜田聡明: 経静脈性超音波造影剤Option(FS-69)による心筋染影のための装置側条件設定: 動物実験での検討. *J Med Ultrasonics* 2000; **27**: 103 - 109
- 13) 石蔵文信: 経静脈性心筋コントラストエコー法における新手法. *Heart View* 2000; **4**: 1226 - 1230
- 14) 小柳左門: 壁, 心腔をどう見るか 2) 壁運動. *in* 心臓病診療プラクティス1: 心エコー図で診る(別府慎太郎編), 第1版. 文光堂, 東京, 1994; pp 88 - 90
- 15) 北畠 顕, 小野塚久夫: Asynergy(壁運動異常)の診断. *in* 心エコーのABC(五島雄一郎, 上田慶二, 大林完二, 矢崎義雄 編), 第1版. 日本医師会, 東京, 1998; pp 210 - 213
- 16) 石蔵文信: 壁運動異常のみかた severe hypokinesis と mild hypokinesis. *心エコー* 2001; **2**: 114 - 120
- 17) Chilian WM, Marcus ML: Phasic coronary blood flow velocity in intramural and epicardial coronary arteries. *Circ Res* 1982; **50**: 775 - 781
- 18) 小林春香, 平田潤子, 市川有美, 松下恵介, 浜田聡明, 石蔵文信, 別府慎太郎: 超音波照射による微小気泡の崩壊: 微小気泡の総数および粒度分布と輝度との関連. *J Med Ultrasonics* 1999; **26**: 398