

Κατευθυντήριες οδηγίες
για τη διαγνωστική
και θεραπευτική προσέγγιση
της οζώδους θυρεοειδικής νόσου

Λ.Χ. Ντούντας,
Α. Τσατσούλη,
Κ. Καραϊσκος,
Κ. Μάρκου

Τμήμα Θυρεοειδούς
Ελληνική
Ενδοκρινολογική Εταιρεία

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οζώδης βρογχοκίλη είναι μια πολύ συχνή πάθηση, όχι μόνο σε ιωδιοπενικές, αλλά και σε περιοχές με επαρκή πρόσληψη ιωδίου. Εκπλήσσει λοιπόν το γεγονός ότι δεν υπάρχουν πολλές δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες για τη διερεύνηση και θεραπεία της οζώδους βρογχοκίλης.

2. ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

2.1. Ορισμός

Ως βρογχοκίλη ορίζεται η αύξηση του μεγέθους του θυρεοειδούς πέραν των 20 g λόγω πολλαπλασιασμού των κυττάρων του αδένου. Η απλή βρογχοκίλη διακρίνεται σε διάχυτη, με ομοιόμορφη αύξηση των θυλακίων του θυρεοειδούς, και σε οζώδη, με ανομοιόμορφη αύξηση των θυλακίων, με δημιουργία όζων διαφόρου μεγέθους και λειτουργικότητας. Η απλή βρογχοκίλη μπορεί να είναι ενδημική (>10% του πληθυσμού).

Διάφορα ερεθίσματα, όπως η TSH, το ιώδιο ή αυτοαντισώματα τύπου TSI, μπορεί να επιδράσουν στα θυρε-

οκύτταρα, με αποτέλεσμα μια εστιακή υπερπλασία με μορφολογική ή και με λειτουργική ετερογένεια.

2.2. Επιδημιολογία

Η οζώδης θυρεοειδική νόσος (ΟΘΝ) είναι, μετά τη διάχυτη βρογχοκίλη, η πιο συχνή ενδοκρινική νόσος, καθώς υπολογίζεται ότι παγκοσμίως πάσχουν περίπου 600 εκατομμύρια άνθρωποι. Τα επιδημιολογικά στοιχεία ποικίλλουν ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, τη μέθοδο ανίχνευσης και τα κριτήρια ορισμού των όζων. Υπολογίζεται ότι το 4-7% του γενικού πληθυσμού (γυναίκες:άνδρες 7:1) έχει κλινικά ψηλαφητούς όζους σε μη ιωδιοπενικές περιοχές. Η μελέτη Whickham έδειξε ότι το 5,3% των ενηλίκων γυναικών και το 0,8% των ανδρών έχουν όζους.¹ Με υπερηχογραφική εξέταση υπολογίζεται ότι 30% των ενηλίκων έχουν απηλάφητους όζους και το ποσοστό αυξάνεται σε >50% σε γυναίκες ηλικίας >60 ετών.²

Υπολογίζεται ότι το 5% των ψηλαφητών όζων είναι κακοήθεις. Χειρουργικές σειρές (χωρίς FNA) έδειξαν ότι 8-20% των χειρουργικών όζων είναι κακοήθεις. Ως γνωστό, ο κίνδυνος κακοήθειας είναι μεγαλύτερος σε μονήρεις όζους, παρά σε πολυοζώδη βρογχοκίλη, καθώς και στους άνδρες και στα παιδιά.

3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΝΟΣΟΥ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ

Η διαγνωστική προσέγγιση της ΟΝΘ πρέπει να αρχίζει με την κλινική εξέταση. Πολλές φορές αρκεί η παρατήρηση και ψηλάφηση του ασθενούς για τη διάγνωση της ΟΝΘ. Η υπερηχοτομογραφική εξέταση είναι αναγκαία, καθώς τουλάχιστον το 50% των ασθενών έχει πολλαπλούς απηλάφητους όζους και γιατί το υπερηχογράφημα είναι η πλέον ευαίσθητη μέθοδος παρακολούθησης του μεγέθους των όζων.

Εκπονήθηκαν από το Τμήμα Θυρεοειδούς της Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας (ΕΕΕ) με βάση τα αποτελέσματα ενός ερωτηματολογίου, που εστάλη σε όλα τα μέλη του. Στα πλαίσια του Πανελληνίου Συνεδρίου της ΕΕΕ, που έλαβε χώρα το Μάρτιο του 2001 στην Αθήνα, οργανώθηκε σχετική συζήτηση στοργυλής τράπεζας με προέδρους τους Καθηγητές κκ Α. Βαγενάκη (Πάτρα) και Δ.Α. Κούτρα (Αθήνα) και εισηγητές τους κκ Α. Τσατσούλη (Ιωάννινα), Κ. Μάρκου (Πάτρα), Κ. Καραϊσκό (Λαμία) και Λ.Χ. Ντούντα (Αθήνα). Στο τελικό κείμενο εισηγήθηκε και η κ. Μ. Αλεβιζάκη (Αθήνα). Υπεύθυνος σύνταξης και επιμέλειας του κειμένου είναι ο κ. Λ.Χ. Ντούντας.

Η κυριότερη εξέταση, πάντως, είναι ο προσδιορισμός της TSH. Η μέτρηση της TSH προτείνεται με μέθοδο 3ης γενιάς και συνιστάται σε όλους τους ασθενείς, καθώς πολλοί κλινικά ευθυρεοειδικοί ασθενείς παρουσιάζουν βιοχημικές ενδείξεις υπερ- ή υποθυρεοειδισμού. Παράλληλα, μπορεί να προσδιορίζονται η FT4, η T3, τα αντι-TPO και τα αντι-Tg. Ευθυρεοειδικοί όζοι διαμέτρου >1 cm πρέπει να εξετάζονται κυτταρολογικά με λεπτή βελόνα (FNA) για τον ενδεχόμενο εντοπισμό καρκίνου. Η εξέταση με λεπτή βελόνα έχει ειδικότητα 98–99% και ευαισθησία 95%.³ Το ποσοστό καρκίνου κυμαίνεται γύρω στο 5% στους ψηλαφητούς, αλλά και μη ψηλαφητούς όζους. Η καθοδηγούμενη από υπερήχους παρακέντηση είναι προαιρετική και εξαρτάται από την πείρα του εξεταστή και το μέγεθος του όζου.

Σε περιπτώσεις όπου η κυτταρολογική εξέταση αναφέρει θυλακιώδη νεοπλασία, ο εξεταστής πρέπει να λάβει υπόψη τη σύσταση του όζου στην ψηλάφηση και την ηχογένεια στο υπερηχογράφημα (υποηχογενής όζος), καθώς συχνά αυτοί οι όζοι ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου για κακοήθεια.⁵

Ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος αναφέρεται στον πίνακα 1.

Ο προσδιορισμός της καλσιτονίνης στον ορό συνιστάται σε όλους τους σκληρούς όζους >1 cm με ή χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή, καθώς διαπιστώθηκε ότι μυελοειδής καρκίνος του θυρεοειδούς μπορεί να υπάρχει σε 1,3% των περιπτώσεων με μονήρη ή πολυοζώδη νόσο του θυρεοειδούς που χειρουργούνται. Ορισμένοι ενδοκρινολόγοι προτείνουν μέτρηση καλσιτονίνης και σε όζους >0,6 cm.⁶

Σπινθηρογράφημα με τεχνήτιο (^{99m}Tc) ενδείκνυται στην εκτίμηση ενός μονήρους όζου, όταν ο όζος είναι >1 cm και η TSH είναι χαμηλή (<0,4 μU/mL) ή κατεσταλμένη (<0,1 μU/mL). Επίσης, σπινθηρογράφημα με ^{99m}Tc προτείνεται σε πολυοζώδεις βρογχοκίλεις, για τη διαπίστωση της πιθανής συνύπαρξης θερμών και ψυχρών όζων και, τέλος, όταν υπάρχει υποψία κατάδυσης στο θώρακα. Ασθενείς που παρουσιάζουν συμπτώματα συμπίεσης της τραχείας θα πρέπει να εξετάζονται με αξονική ή μαγνητική τομογραφία (CT ή MRI) του τραχήλου και του άνω θώρακος, καθώς και με σπιρομέτρηση. Η ευαισθησία της CT και της MRI στη διάγνωση μιας καταδυσόμενης στο θώρακα βρογχοκίλης είναι 100%.⁷

Πίνακας 1. Βασικός εργαστηριακός έλεγχος μονήρους όζου.

TSH, FT4, T3 (αντι-θυρεοειδικά αντισώματα μόνο στην 1η επίσκεψη)
FNA σε όζο >1 cm
Υπερηχογράφημα
Σπινθηρογράφημα

Οι περισσότεροι, πάντως, όζοι δεν μεταβάλλονται. Σε μια μελέτη παρακολούθησης ασθενών με όζους στο θυρεοειδή για 1–15 χρόνια, 86% των όζων παρέμειναν σταθεροί, ενώ 5% των ασθενών έγιναν ετησίως υπερθυρεοειδικοί. Ο κίνδυνος φαίνεται να είναι μεγαλύτερος όταν ο όζος κατά τη διάγνωση είναι ≥ 3 cm.⁸

4. ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Η συντηρητική αντιμετώπιση της ΟΝΘ αποτελεί αντικείμενο πολλών ερευνητικών μελετών, αλλά και αντίθετων απόψεων, όπως έχουν καταδείξει δύο πρόσφατες μεγάλες μελέτες στον ευρωπαϊκό χώρο.^{9,10} Στις μελέτες αυτές, 40% των ερωτηθέντων προκρίνουν αγωγή με T4 για το μονήρη όζο και για τη μη τοξική πολυοζώδη βρογχοκίλη. Η προσπάθεια συρρίκνωσης των ψυχρών όζων με αγωγή καταστολής με T4 παραμένει σχετικά δημοφιλής αλλά και αμφισβητήσιμη πρακτική. Με την εισαγωγή της υπερηχοτομογραφίας και την ακριβή παρακολούθηση των διαστάσεων των όζων του θυρεοειδούς αδένου, αλλά και με τη χρήση μεθόδων νέας τεχνολογίας για τον προσδιορισμό της TSH, διάφορες προοπτικές μελέτες για την αποτελεσματικότητα της αγωγής με T4 δημοσιεύθηκαν τα τελευταία 10 χρόνια. Ορισμένες μελέτες αναφέρουν μείωση έως και 50% των μονήρων όζων συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου.^{11–13} Σε μια σχετικά πρόσφατη μετα-ανάλυση 7 μελετών, ο όγκος των όζων μειώθηκε κατά 50% στο 25% 242 ασθενών που έλαβαν θυροξίνη και μόνο κατά 8% σε 171 ασθενείς που έλαβαν placebo ή καμία αγωγή.¹⁴ Αντίθετα, άλλες μελέτες, αν και παρουσιάζουν μεθοδολογικές και στατιστικές αδυναμίες, δεν μπόρεσαν να αποδείξουν κανένα θετικό αποτέλεσμα.^{15,16} Πάντως, η χρονία αγωγή παραμένει αμφισβητούμενη, καθώς ελλείπουν τα δεδομένα που θα αποδεικνύουν ότι η θυροξίνη επηρεάζει τη φυσική εξέλιξη της ΟΝΘ.¹⁷

Το αποτέλεσμα της καταστολής με T4 φαίνεται ότι μπορεί να προβλεφθεί και από την κυτταρολογική εξέταση με λεπτή βελόνα. Κολλοειδείς ή εκφυλιστικοί όζοι με διάμετρο έως 1,7 cm μπορεί να μειωθούν τουλάχιστον κατά 30%. Αντίθετα, υπερπλαστικοί ή αδενωματώδεις όζοι δεν μεταβάλλονται.^{18,19} Γενικά, η αγωγή καταστολής της TSH με T4 στην ΟΝΘ φαίνεται να έχει αποτέλεσμα και ιδιαίτερα σε ιωδιοπενικές περιοχές.²⁰ Πάντως, εάν το αποτέλεσμα είναι θετικό μετά από 6–12 μήνες, μπορούμε να μειώσουμε τη δόσολογία του T4, έτσι ώστε η TSH να κυμαίνεται μεταξύ 0,1–0,3 μU/mL.

Η προτεινόμενη στρατηγική για την αντιμετώπιση ενός ψυχρού όζου, βάσει των βιβλιογραφικών δεδομένων, παρουσιάζεται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Στρατηγική αντιμετώπισης ενός ψυχρού όζου.

Εάν ο όζος είναι καλοήθης και μεγέθους ≥ 1 cm, μπορεί να χορηγηθεί μακροχρόνια αγωγή με T4
 Στόχος είναι η καταστολή της TSH (TSH 0,1–0,02 $\mu\text{U/mL}$) και η παρεμπόδιση περαιτέρω αύξησης του μεγέθους του όζου
 Η δόση της T4 συνήθως κυμαίνεται στα 100–150 $\mu\text{g/ημέρα}$. Απαιτείται προσοχή στους ηλικιωμένους ασθενείς
 Είναι απαραίτητος ο έλεγχος της TSH στους 3, 6, 12 μήνες, καθώς και ο υπερηχογραφικός έλεγχος στους 3–6 μήνες

Η αγωγή καταστολής με T4 μπορεί να προκαλέσει μείωση της οστικής πυκνότητας μόνο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.²¹ Η αγωγή είναι ασφαλής για ασθενείς χωρίς καρδιαγγειακή νόσο και αποτελεσματική όσον αφορά τη μείωση του όγκου ενός όζου τουλάχιστον στο 17% των ασθενών και την αναστολή της περαιτέρω ανάπτυξής του στο 10% των ασθενών.

5. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΝΟΣΟΥ ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ

Μεγάλοι όζοι ή μεγάλες πολυοζώδεις βρογχοκίλεις με συνοδά συμπτωτικά φαινόμενα πρέπει να αντιμετωπίζονται χειρουργικά.²² Η έκταση της θυρεοειδεκτομής εξαρτάται από την προεγχειρητική διάγνωση, τη γενική κατάσταση του ασθενούς και από το χειρουργό, ο οποίος πρέπει να είναι έμπειρος χειρουργός ενδοκρινών αδένων. Η ολική τεχνική με λεμφαδενικό έλεγχο και καθαρισμό είναι απαραίτητη στο διαφοροποιημένο καρκίνο του θυρεοειδούς. Η σχεδόν ολική θυρεοειδεκτομή προτείνεται στη μεγάλη πολυοζώδη βρογχοκίλη. Η υποτροπή της βρογχοκίλης εξαρτάται από την έκταση της θυρεοειδεκτομής και κυμαίνεται από 0% στην ολική θυρεοειδεκτομή έως και 60% στη λοβεκτομή. Τα είδη θυρεοειδεκτομής συνοψίζονται στον πίνακα 3 και οι κλινικές ενδείξεις στα άτομα με ΟΝΘ στον πίνακα 4.

Οι επιπλοκές της θυρεοειδεκτομής εξαρτώνται από την έκταση της επέμβασης και από την εμπειρία του χει-

Πίνακας 3. Είδη θυρεοειδεκτομής.

Αφαίρεση μόνο του όζου
 Μερική λοβεκτομή (με τον όζο)
 Λοβεκτομή
 Υφολική θυρεοειδεκτομή (μερική λοβεκτομή άμφω+ισθμεκτομή)
 Σχεδόν ολική θυρεοειδεκτομή (συνολικό υπόλοιπο <10%)
 Ολική θυρεοειδεκτομή

Πίνακας 4. Κλινικές ενδείξεις θυρεοειδεκτομής στην οζώδη νόσο του θυρεοειδούς.

Άτομα υψηλού κινδύνου για καρκίνο (ηλικία <20 ή >60 ετών, άρρενες, ιστορικό ακτινοθεραπείας)
 Όζος που μεγαλώνει γρήγορα ή που αυξάνεται σε μέγεθος παρά την αγωγή καταστολής
 Πιεστικά φαινόμενα, βράγχος φωνής, επιχώριοι λεμφαδένες
 Σκληρός ή περιορισμένης κινητικότητας όζος
 Όζος >4 cm

ρουργού, καθώς είναι ασυνήθεις σε έμπειρα χέρια. Οι πλέον συχνές επιπλοκές είναι η παράλυση της φωνητικής χορδής και ο υποπαραθυρεοειδισμός.²³

5.1. Θεραπεία με ραδιενεργό ιώδιο (¹³¹I)

Θεραπεία με ραδιενεργό ¹³¹I προτείνεται σε μη χειρουργήσιμους ασθενείς με μεγάλες, συμπτωματικές, οζώδεις βρογχοκίλεις ή σε ασθενείς που δεν θέλουν να χειρουργηθούν. Η προτεινόμενη δόση είναι 120 μCi (4,44 MBq) για κάθε mm^3 θυρεοειδικού ιστού.²⁴ Εφόσον αποφασιστεί η ραδιοθεραπεία, θα πρέπει να εξεταστεί και η χορήγηση χαμηλής δόσης rhTSH (0,01 ή και 0,03 mg), που φαίνεται ότι αυξάνει σημαντικά την 24ωρη πρόσληψη του ραδιενεργού ιωδίου σε ασθενείς με μεγάλες πολυοζώδεις βρογχοκίλεις (μεταξύ 60 και 300 g).²⁵

Πάντως, λόγω της έλλειψης μελετών παρακολούθησης ασθενών που έχουν λάβει θεραπευτικές δόσεις ¹³¹I, όσον αφορά τον κίνδυνο για καρκίνο ή λευχαιμία, αυτή η πρακτική δεν συνιστάται σε νέους ασθενείς.

ABSTRACT

Guidelines for a diagnostic and therapeutic approach of the thyroid nodule

L.H. DUNTAS, A. TSATSOULIS, K. KARAIKOS, K. MARKOU
 Thyroid Section, Hellenic Endocrine Association, Greece
 Archives of Hellenic Medicine 2002, 19(1):24–27

Key words: Nodule, L-thyroxine, Radiotherapy, Thyroid, TSH

Βιβλιογραφία

1. TURNBRIDGE WMG, EVERED DC, HALL R, APPLETON D, BREWIS M, CLARK F ET AL. The spectrum of thyroid disease in a community: The Wickham Survey. *Clin Endocrinol* 1977, 7:481–493
2. MAZZAFERRI EL. Management of a solitary thyroid nodule. *N Engl J Med* 1993, 28:553–559
3. TOLLIN SR, MERY GM, JELREH N, FALLON EF, MIKHAIL M, BLUMENFELD W ET AL. The use of fine-needle aspiration biopsy under ultrasound guidance to assess the risk of malignancy in patients with a multinodular goiter. *Thyroid* 2000, 10:235–241
4. BENNEDBAEK FN, PERRILD H, HEGEDUES L. Diagnosis and treatment of the solitary thyroid nodule. Results of a European Survey. *Clin Endocrinol* 1999, 50:357–363
5. RABER W, KASERER K, NIEDERLE B, VIERHAPPER H. Risk factors for malignancy of thyroid nodules initially identified as follicular neoplasia by fine-needle aspiration: Results of a prospective study on one hundred twenty patients. *Thyroid* 2000, 10:709–712
6. HAHM JR, LEE M-S, MIN Y-K, LEE M-K, KIM K-W, NEM SJ ET AL. Routine measurements of serum calcitonin is useful for early detection of medullary thyroid carcinoma in patients with nodular thyroid diseases. *Thyroid* 2001, 11:73–80
7. HERMUS AR, HUYSMANS DA. Treatment of benign nodular thyroid disease. *N Engl J Med* 1998, 338:1438–1447
8. HAMBURGER J. Evolution of toxicity in solitary nontoxic autonomously functioning thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab* 1980, 50:1089–1093
9. BENNEDBAEK FN, PERRILD H, HEGEDUES L. Diagnosis and treatment of the solitary thyroid nodule. Results of a European Survey. *Clin Endocrinol* 1999, 50:357–363
10. BONNEMA SJ, BENNEDBAEK FN, WIERSINGA WM, HEGEDUES L. Management of the nontoxic multinodular goitre: A European questionnaire study. *Clin Endocrinol* 2000, 53:5–12
11. LA ROSA GL, LUPO L, GIUFRIDA D, GULLO D, VIGNERI R, BELFIORE A. Levothyroxine and potassium iodide are both effective in treating benign solitary solid cold nodules on the thyroid. *Ann Intern Med* 1995, 122:1–8
12. MAININI E, MARTINELLI I, MORANDI G, VILLA S, STEFANI I, MAZZI C. Levothyroxine suppressive therapy for solitary thyroid nodules. *J Endocrinol Invest* 1995, 18:796–799
13. LIMA N, KNOBEL M, CAVALIERE H, SZTEJNSZNAJD C, TOMINMORI E, MEDEIROS-NETO G. Levothyroxine suppressive therapy is partially effective in treating patients with benign solid thyroid nodules and multinodular goiters. *Thyroid* 1997, 7:691–697
14. ZELMANOVITZ F, GENRO S, GROSS JL. Suppressive therapy with levothyroxine for solitary thyroid nodules: a double-blind controlled clinical study and cumulative meta-analyses. *J Clin Endocrinol Metab* 1998, 83:3881–3885
15. GHARIB H, JAMES EM, CHABONEAU JW, NAESSENS JM, OFFORD KP, GORMAN CA. Suppressive therapy with levothyroxine for solitary thyroid nodules. A double-blind controlled clinical study. *N Engl J Med* 1987, 317:70–75
16. REVERTER JL, LUCAS A, SALINAS I, AUDI L, FOZ M, SANMARTI A. Suppressive therapy with levothyroxine for solitary thyroid nodules. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992, 36:25–28
17. HANNA FWF, LAZARUS JH, SCANLON MF. Controversial aspects of thyroid disease. *Br Med J* 1999, 319:894–899
18. TSELENI-BALAFOUTA S, KATSOUYANNI K, KITSOPANIDES J, KOUTRAS DA. The outcome of benign thyroid nodules correlates with the findings of fine needle biopsy. *Thyroidology* 1991, 3:75–78
19. LA ROSA GL, IPPOLITO AM, LUPO L, CERCABENE G, SANTONOCITO MG, VIGNERI R ET AL. Cold thyroid nodule reduction with L-thyroxine can be predicted by initial nodule volume and cytopathological characteristics. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81:4385–4387
20. LEWINSKI A, LAUBERG P, RIDWAY CE. State-of-the-art approach to the diagnostics and treatment of thyroid nodules—clinical management workshop. 11th International Congress of Endocrinology 2000, 290:82 (Abstract Book)
21. UZZAN B, CAMPOS J, CUCHERAT M, NONY P, BOISSEL JP, PERRET GY. Effects on bone mass of long-term treatment with thyroid hormones: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81:4278–4289
22. COHEN-KEREM R, SCHACHTER P, SHEINFELD M, BARON E, COHEN O. Multinodular goiter: the surgical procedure of choice. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000, 122:848–850
23. TUTTLE RM, LEMAR H, BURCH HB. Clinical features associated with an increased risk of thyroid malignancy in patients with follicular neoplasia by fine-needle aspiration. *Thyroid* 1998, 8:377–384
24. WESCHE MRT, TIEL-V BUUL MMC, LIPS P, SMITS NJ, WIERSINGA WM. A randomized trial comparing L-thyroxine with radioactive iodine in the treatment of sporadic nontoxic goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:998–1005
25. HUYSMANS DA, NIEUWLAAT WA, ERDTSIECK RJ. Administration of a single low dose of recombinant human thyrotropin significantly enhances thyroid radioiodide uptake in non-toxic nodular goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 2000, 85:3592–3596