



## Ankilozan Spondilitli Erkek Hastalarda Serum D Vitamini Seviyesinin Hastalık Aktivitesi ile İlişkisi

### Association of Serum Vitamin D Levels with Disease Activity in Male Patients with Ankylosing Spondylitis

Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Sevilay Çüçen Batıbay, Pinar Duygu Eroğlu

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

#### Öz

**Amaç:** Ankilozan spondilitli (AS) erkek hastalarda serum 25 hidroksi (OH) D vitamini düzeyinin hastalık aktivitesi ile ilişkisini incelemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya AS tanısı ile takip edilmekte olan 51 erkek hasta alındı. Hastaların demografik özellikleri ile serum 25(OH)D vitamini, 1 saatlik eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), serum C-reaktif protein (CRP), kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz, parathormon düzeyleri kayıtlı edildi. Hastalar serum 25(OH)D vitamini seviyelerine göre iki gruba ayrıldı; 21 hasta 20 ng/mL'nin altında olan grubu, 30 hasta 20 ng/mL'nin üzerinde olan grubu oluşturdu. Hastalık aktivitesini belirlemek için Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) skorları değerlendirilmeye alındı.

**Bulgular:** Hastalık aktivitesinin değerlendirildiği BASDAI skorlarının serum 25(OH)D vitamini düzeyleri 20 ng/mL'nin üzerinde olan grupla karşılaştırıldığında, 20 ng/mL'nin altında olan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). ESH, serum CRP, parathormon, kalsiyum, fosfor ve alkalin fosfataz değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

**Sonuç:** Bu çalışmada AS'li hastalarda serum D vitamini düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında ters yönde anlamlı bir ilişki saptanmış olup tedavi planında serum D vitamini düzeylerinin de dikkate alınması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Ankilozan spondilit, D vitamini, hastalık aktivitesi

#### Summary

**Objective:** To examine the relationship between serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] level and disease activity in male patients with ankylosing spondylitis (AS).

**Materials and Methods:** The study enrolled 51 male AS patients being followed at our hospital. Patient demographics as well as serum levels of 25(OH)D vitamin, C-reactive protein (CRP), calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and parathormone, and erythrocyte sedimentation rate (ESR) at 1 hour were recorded. Patients were divided into two groups based on their serum 25(OH)D vitamin levels; one group consisted of 21 patients with 25(OH)D vitamin levels less than 20 ng/mL and the other group comprised 30 patients with 25(OH)D levels greater than 20 ng/mL. Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) scores were evaluated in order to determine the disease activity.

**Results:** BASDAI scores were statistically significantly higher in the group with serum 25(OH)D vitamin levels less than 20 ng/mL compared to the group with 25(OH)D levels above 20 ng/mL ( $p<0.05$ ). There was no statistically significant difference between groups in terms of ESR, serum levels of CRP, parathormone, calcium, phosphorus and alkaline phosphatase.

**Conclusion:** In the present study, an inverse relationship has been found between serum vitamin D levels and disease activity in male AS patients and it was concluded that serum vitamin D levels should also be taken into account while developing a treatment plan.

**Keywords:** Ankylosing spondylitis, vitamin D, disease activity

## Giriş

Ankilozan spondilit (AS) karakteristik olarak aksiyel iskelet ve entezis bölgelerini tutan, bazı hastalarda periferik eklemleri de etkileyen kronik, sistemik, enflamatuvar bir hastalıktır (1). AS'li hastalarda serum D vitamini düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğu gösterilmiştir (2-4). Son yıllarda bir hormon olarak nitelendirilen D vitamininin kalsiyum-fosfor metabolizması ve kemik mineralizasyonundaki rollerinin yanında immün sistem üzerinde düzenleyici fonksiyonları da olduğu düşünülmektedir (5). 1,25 dihidroksi vitamin D'nin T helper 1 (Th 1) ve Th 17 gibi proinflamatuvar hücrelerin aktivitesini azaltarak immün toleransı arttırdığı bilinmektedir (6). Bu etkileri D vitamini önemli bir potansiyel otoimmünite modülatörü haline getirmektedir (3).

D vitamini eksikliğinde enfeksiyonlara ve aralarında sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, tip 1 diabetes mellitus, multipl sklerozun da bulunduğu otoimmün hastalıklara yatkınlık artmaktadır (7). Kronik enflamatuvar romatizmal hastalıklar içinde özellikle romatoid artritte serum 25 hidroksi (OH) D vitamini düşüklüğünün yüksek hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (8,9). AS'li hastalarda serum D vitamini düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bulunmakla birlikte bu konu literatürde henüz netlik kazanmamıştır. Çalışmamızın amacı; AS'li erkek hastalarda serum 25(OH)D vitamini düzeyinin Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) skoru ile ölçülen hastalık aktivitesi, demografik özellikler ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisini incelemektir.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza fizik tedavi ve rehabilitasyon kliniği, romatoloji polikliniğimizde AS tanısı ile takip ve tedavi edilmekte olan erkek hastalar alındı. Bu hastalardan takipleri düzenli olarak yapılmış olan, serum 25(OH)D vitamini seviyeleri ölçülmüş olan, takip süresi boyunca D vitamini replasman tedavisi yapılmamış olanların dosyaları retrospektif olarak tarandı. AS tanısı 1984 Modifiye New York Kriterleri'ne göre konulmuştu (10). Hastalık aktivitesi ve biyokimyasal parametreleri etkileyen enfeksiyonu, kardiyopulmoner hastalığı, renal yetmezliği, hiperparatiroidizm gibi endokrin bozukluğu ve malabsorpsiyonu olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların yaş, boy, kilo, gibi demografik özellikleri, hastalık süresi, kullandıkları ilaçlar, serum 25(OH)D vitamini seviyelerinin ölçüldüğü tarihteki 1 saatlik eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), serum C-reaktif protein (CRP) düzeyleri, serum kalsiyum, fosfor, alkalin fosfat, parathormon gibi laboratuvar parametreleri kayıt edildi. Serum 25(OH)D vitamini düzeyi ölçümünde kemilüminesans mikropartikül immünoassay teknolojisi ile çalışan Architect i2000 (Abbott, Almanya) cihazı kullanılmıştı. 25(OH)D vitamini sistemik yarılanma ömrünün uzun olması nedeniyle dolaşımda en yüksek konsantrasyonda bulunan D vitamini formudur. Bu sebeple serum 25(OH)D düzeyinin genel vitamin D profilini değerlendirmede en iyi

gösterge olduğu kabul edilmektedir (11). Serum D vitamini düzeylerinin mevsimsel değişiklik gösteriyor olması nedeniyle çalışmaya Mart-Mayıs aylarında değerlendirilmiş olan hastalar dahil edildi.

Hastalar serum D vitamini düzeylerine göre iki gruba ayrıldı. Literatürde serum 25(OH)D vitamini düzeyinin 20 ng/mL'den düşük olması, serum D vitamini eksikliği olarak tanımlanmaktadır (11). Bu nedenle serum 25(OH)D vitamini düzeyi 20 ng/mL'nin altında olanlar grup 1, 20 ng/mL'nin üzerinde olanlar grup 2 olarak adlandırıldı. Hastalık aktivitesini belirlemek için BASDAI skorları değerlendirmeye alındı. BASDAI son 1 haftalık sürede hastalığın önemli bulgularını (halsizlik/yorgunluk, omurga ve kalça ağrısı, periferik eklemlerde ağrı/şişlik, entezit, sabah tutukluğunun şiddeti ve süresi) değerlendiren altı soru içermektedir. Her soru 0-10 cm ölçekli vizüel analog skala ile puanlanmaktadır. Son iki sorunun ortalama puanı ile ilk 4 sorunun puanları toplanıp 5'e bölünerek toplam skor elde edilmektedir. Toplam skorun yüksek olması yüksek hastalık aktivitesini göstermektedir (12). Türkçe geçerlik güvenilirliği Akkoc ve ark. (13) tarafından yapılmıştır.

## İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 19.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar olarak ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum değerleri kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## Bulgular

Çalışmamıza alınan 51 AS'li erkek hastanın yaşlarının medyan değeri 37,5 (14-70) yıl idi. Hastalar D vitamini düzeylerine göre gruplandırıldığında; serum 25(OH)D vitamini düzeyi 20 ng/mL'nin altında olan birinci grupta 21 hasta, 20 ng/mL'nin üzerinde olan ikinci grupta ise 30 hasta olduğu görüldü. Grup 1'deki hastaların yaşlarının medyan değeri 42,5 (14-70) yıl iken grup 2'deki hastaların yaşlarının medyan değeri 36 (24-66) yıl olup, iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Ayrıca vücut kitle indeksi, hastalık süresi ve aldıkları tedaviler açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuyordu (Tablo 1). Grup 1'de 8 hasta nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) ve Sülfasalazin (SLZ), 12 hasta anti-tümör nekroz faktör (anti-TNF) tedavisi, 1 hasta kombine tedavi (SLZ+anti-TNF) almakta idi. Grup 2'de ise 7 hasta NSAİİ ve SLZ, 23 hasta anti-TNF ile tedavi edilmekteydi. Hastalık aktivitesini değerlendiren BASDAI skorlarının medyan değeri grup 1'de 3,75 (0,2-7,6), grup 2'de ise 1,95 (0-7,5) olup, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0,05$ ) (Tablo 1).

Her iki grubun serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin medyan değerleri incelendiğinde; grup 1'de D vitamini düzeyinin medyan değerinin 12 (5,5-19,8), grup 2'de ise 26,2 (20,1-64,5) olduğu görüldü (Tablo 2). ESH, serum CRP, parathormon, kalsiyum,

fosfor ve alkalin fosfataz gibi laboratuvar parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 2).

## Tartışma

D vitamini eksikliğinin otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına ve progresyonuna katkıda bulunduğu saptanması ile D vitamininin immünmodülatör bir rolü olduğu anlaşılmıştır (3). Vitamin D reseptörünün aktive dendritik hücreler, antijen sunan hücreler, T ve B lenfositlerden izole edilmiş olması ile birlikte D vitamininin immün sistemi düzenleyici fonksiyonları olduğu saptanmıştır (14). D vitamininin immün sistemde oluşturduğu net etki immünsüpresyondur (15). Bu nedenle serum D vitamini seviyelerinin otoimmün hastalıklarda hastalık aktivitelerini etkileyebileceği düşünülmüştür. Düşük serum D vitamini düzeylerinin enflamatuvar artritlerin şiddeti ve artmış hastalık aktivitesi ile ilişkisi gösterilmiştir (16). Zhao ve ark. (3) tarafından yapılan bir derlemede, romatizmal hastalıklar ile serum D vitamini düzeylerinin ilişkisini inceleyen çalışmaların önemli bir kısmında hastalık aktivitesi ile D vitamini seviyeleri arasında ters yönde anlamlı ilişki saptanmıştır.

Biz de bu çalışmada literatürle uyumlu olarak AS'li erkek hastalarda serum D vitamini düzeyi düşük olan grupta BASDAI skorlarının anlamlı olarak yüksek olduğunu saptadık, ancak ESH ve CRP değerleri açısından serum 25(OH)D vitamini düzeylerine göre ayrılan gruplar arasında anlamlı bir korelasyon bulamadık.

AS'li hastalarda vitamin D yetersizliğinin erkek cinsiyette çok daha belirgin olduğu gösterildiğinden (2) çalışmamız erkek hastalar üzerinde yapılmıştır. Hmamouchi ve ark.'da (17) bizim sonuçlarımıza benzer bir şekilde AS'li erkek hastalarda yaptıkları çalışmada, 25(OH)D düzeyleri ile BASDAI ve Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index skorları arasında ters yönlü ilişki olduğunu göstermişlerdir. Lange ve ark.'na (18) göre serum 1,25 vitamin D3 düzeyleri ile hastalık aktivitesi ve plazma TNF-alfa seviyeleri arasında negatif ilişki mevcuttur. Aynı çalışmada AS'li hastalarda osteoporoz gelişimi ile yüksek hastalık aktivitesi ve vitamin D seviyeleri arasında da ilişki olduğu bildirilmiştir.

Erten ve ark. (2) AS hastalarında BASDAI skorları ile serum D vitamini düzeyleri arasında ilişki saptamamışlardır. Ancak D vitamini düzeyleri ile akut faz cevabı arasında ters yönde ilişki bildirmişlerdir. Mermerci Baskan ve ark. (19) ise AS hastalarında hastalık aktivitesi ve serum D vitamini seviyesi ilişkisini inceledikleri kontrollü çalışmalarında; serum 25(OH) D vitamini düzeylerini AS hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük saptamışlar, ancak serum 25(OH)D vitamini düzeyleri ile ESH, CRP ve BASDAI skorları arasında anlamlı bir korelasyon bulamamışlardır.

Romatoid artritli hastalarda eklem hasarı progresyonunun mevsimsel değişiklikler gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada alfa-kalsidiol replasmanının proinflamatuvar hücrelerin proliferasyonu ve bu hücrelerin sitokin üretimini azalttığı

**Tablo 1. Gruplar arası karakteristik özelliklerin karşılaştırılması**

	Grup 1 (n=21)	Grup 2 (n=30)	p değeri
Yaş, yıl	42,5 (14-70) <sup>a</sup>	36 (24-66) <sup>a</sup>	0,122
VKİ, ortalama ± standart sapma, kg/m <sup>2</sup>	25,03±2,35	24,69±2,60	0,711
Hastalık süresi (yıl)	10 (2-30) <sup>a</sup>	9 (1-30) <sup>a</sup>	0,805
BASDAI	3,75 (0,2-7,6) <sup>a</sup>	1,95 (0-7,5) <sup>a</sup>	0,034
Tedavi, n (%)			0,220
NSAİİ+SLZ	8 (%38,1)	7 (%23,3)	
Anti-TNF	12 (%57,1)	23 (%76,7)	
Kombine	1 (%4,8)		

<sup>a</sup>Medyan (minimum-maksimum), VKİ: Vücut kitle indeksi, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, NSAİİ: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç, SLZ: Sülfasalazin, TNF: Tümör nekroz faktör

**Tablo 2. Gruplar arası laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması**

	Grup 1 (n=21) Medyan (minimum-maksimum)	Grup 2 (n=30) Medyan (minimum-maksimum)	p değeri
D vitamini, ng/mL	12 (5,5-19,8)	26,2 (20,1-64,5)	
ESH, mm/h	8 (2-82)	7 (1-49)	0,287
CRP, mg/dL	0,4 (0,01-11)	0,2 (0,01-3,7)	0,401
PTH, pg/mL	65 (26,4-119)	48,7 (20-84,1)	0,056
Kalsiyum, mg/dL	9,6 (8,7-10)	9,4 (8,7-10,1)	0,358
Fosfor, mg/dL	3,1 (2,6-4,4)	3 (2,4-4)	0,512
ALP, IU/L	87,5 (58-125)	89,5 (49-139)	0,889

ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı, CRP: C-reaktif protein, PTH: Parathormon, ALP: Alkalin fosfataz

gösterilmiştir (20). D vitamini analogları ile yapılan tedavilerin romatoid artritli hastalarda hastalık aktivitesini azalttığı başka çalışmalarda da gösterilmiştir (21).

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmamızın en önemli limitasyonları; retrospektif olması, sağlıklı kontrol grubunun olmaması ve hasta sayısının düşük olmasıdır. Daha geniş hasta grupları ile kontrollü dizayn edilmiş yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Sonuç

Bulgularımız literatür verileri ile birlikte değerlendirildiğinde AS'li hastalarda serum D vitamini düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında ters yönde bir ilişki olduğu anlaşılmaktadır. AS hastalarında tedavi stratejileri geliştirilirken serum D vitamini düzeylerini dikkate alan ve gerektiğinde D vitamini replasmanını içeren bir yaklaşımın gerekli olduğu görülmektedir.

### Etik

*Etik Kurul Onayı: 13.04.2013 tarihli 28617 sayılı Resmî Gazete'de yayınlanan klinik araştırmalar hakkındaki yönetmeliğin birinci bölümünün 2. maddesinin 2. bendinde retrospektif çalışmaların yönetmelik kapsamı dışında olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle retrospektif olan bu çalışmamızda etik kurul onayı alınmamıştır, Hasta Onayı: Retrospektif çalışmadır. Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.*

### Yazarlık Katkıları

*Konsept: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Dizayn: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Veri Toplama veya İşleme: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Sevily Çüçen Batıbay, Pınar Duygu Eroğlu, Analiz veya Yorumlama: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Sevily Çüçen Batıbay, Literatür Arama: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü, Sevily Çüçen Batıbay, Pınar Duygu Eroğlu, Yazan: Nilgün Mesci, Duygu Geler Külcü.*

*Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.*

*Finansal Destek: Bu çalışma için hiçbir kuruluş veya organizasyonun desteği alınmamıştır.*

### Kaynaklar

1. Van Der Linden S, Braun J. Ankylosing spondylitis. In: Haris ED BR, Frestein GS, (eds). Kelley's textbook of rheumatology. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 1125-41.
2. Erten S, Kucuksahin O, Sahin A, Altunoglu A, Akyol M, Koca C. Decreased plasma vitamin D levels in patients with undifferentiated spondyloarthritis and ankylosing spondylitis. Intern Med 2013;52:339-44.

3. Zhao S, Duffield SJ, Moots RJ, Goodson NJ. Systematic review of association between vitamin D levels and susceptibility and disease activity of ankylosing spondylitis. Rheumatology (Oxford) 2014;53:1595-603.
4. Zhang P, Li Q, Wei Q, Liao Z, Lin Z, Fang L, et al. Serum Vitamin D and Pyridinoline Cross-Linked Carboxyterminal Telopeptide of Type I Collagen in Patients with Ankylosing Spondylitis. Biomed Res Int 2015;2015:543806.
5. Yazmalar L, Ediz L, Alpaycı M, Hiz O, Toprak M, Tekeoglu I. Seasonal disease activity and serum vitamin D levels in rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and osteoarthritis. Afr Health Sci 2013;13:47-55.
6. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. Clin Endocrinol (Oxf) 2012;76:315-25.
7. Cutolo M. Vitamin D or hormone D deficiency in autoimmune rheumatic diseases, including undifferentiated connective tissue disease. Arthritis Res Ther 2008;10:123.
8. Azzeah FS, Kensara OA. Vitamin D Is a Good Marker for Disease Activity of Rheumatoid Arthritis Disease. Dis Markers 2015;2015:260725.
9. Lin J, Liu J, Davies ML, Chen W. Serum Vitamin D Level and Rheumatoid Arthritis Disease Activity: Review and Meta-Analysis. PLoS One 2016;11:e0146351.
10. van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. Arthritis Rheum 1984;27:361-8.
11. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab 2011;96:1911-30.
12. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. J Rheumatol 1994;21:2286-91.
13. Akkoc Y, Karatepe AG, Akar S, Kirazlı Y, Akkoc N. A Turkish version of the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index: reliability and validity. Rheumatol Int 2005;25:280-4.
14. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. Ann Rheum Dis 2007;66:1137-42.
15. Cantorna MT, Yu S, Bruce D. The paradoxical effects of vitamin D on type 1 mediated immunity. Mol Aspects Med 2008;29:369-75.
16. Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martinez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. Rheumatology (Oxford) 2008;47:920-3.
17. Hmamouchi I, Allali F, Hamdaoui B, Amine H, Rostom S, R. A. The relation between disease activity, vitamin D levels and bone mineral density in men patients with ankylosing spondylitis. Rheumatol Rep 2013;5:7-11.
18. Lange U, Teichmann J, Strunk J, Muller-Ladner U, Schmidt KL. Association of 1.25 vitamin D3 deficiency, disease activity and low bone mass in ankylosing spondylitis. Osteoporos Int 2005;16:1999-2004.
19. Mermerci Baskan B, Pekin Dogan Y, Sivas F, Bodur H, Ozoran K. The relation between osteoporosis and vitamin D levels and disease activity in ankylosing spondylitis. Rheumatol Int 2010;30:375-81.
20. Zold E, Szodoray P, Nakken B, Barath S, Kappelmayer J, Csathy L, et al. Alfacalcidol treatment restores derailed immune-regulation in patients with undifferentiated connective tissue disease. Autoimmun Rev 2011;10:155-62.
21. Andjelkovic Z, Vojinovic J, Pejnovic N, Popovic M, Dujic A, Mitrovic D, et al. Disease modifying and immunomodulatory effects of high dose 1 alpha (OH) D3 in rheumatoid arthritis patients. Clin Exp Rheumatol 1999;17:453-6.