

MEMENİN İNVAZİV MİKROPAPİLLER KARSİNOMU: KLİNİKOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMLARLA KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Seyran YİĞİT, Dr. Sinem AYDIN ERGUN, Dr. Aslı KAHRAMAN

ÖZET: Son yıllarda tanımlanan memenin invaziv mikropapiller karsinomu kötü prognozlu olup invaziv duktal karsinomun bir varyantı olarak belirtilmektedir. Bu çalışmada invaziv duktal karsinom tanısı alan 166 olgu ve invaziv mikropapiller karsinom (saf ve mikst) tanısı alan 10 olgu klinikopatolojik özellikleri açısından karşılaştırıldı. Çalışmamızda invaziv mikropapiller karsinom olguları invaziv duktal karsinom olgularına göre daha genç yaşta ve daha büyük çapta bulundu. İnvaziv mikropapiller karsinom olgularında histolojik ve nükleer derece I olgu mevcut değil idi. İn situ duktal karsinom komponenti varlığı, vasküler invazyon ve lenf nodu metastazı oranı invaziv duktal karsinom olgularına göre daha yüksek olarak bulundu. Bütün bu bulgular invaziv mikropapiller karsinomların invaziv duktal karsinoma göre daha kötü prognostik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. p53, ER, PR, cerb-B2 sonuçları ile her iki tümör grubunda istatistiksel olarak farklılık saptanmadı. Sonuç olarak bir meme karsinomunda invaziv mikropapiller karsinoma ait histopatolojik görünüm fokal alanlarda bile mevcut ise patoloji raporunda belirtilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

ANAHTAR KELİMELER: İnvaziv mikropapiller karsinom, invaziv duktal karsinom, meme karsinomu

SUMMARY: INVASIVE MICROPAPILLARY CARCINOMA OF THE BREAST: CLINICOPATHOLOGICAL FEATURES AND COMPARISON WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA. Recently described, invasive micropapillary carcinoma of the breast has a poor prognosis and is defined as a variant of invasive ductal carcinoma. In this study, 166 cases with a diagnosis of invasive ductal carcinoma and 10 cases with a diagnosis of invasive micropapillary carcinoma (pure and mixed) were compared in view of their clinicopathologic features at Izmir Atatürk Education and Research Hospital during a period lasting from January 2001- July 2003. In our study, invasive micropapillary carcinoma cases were younger than invasive ductal carcinoma cases and the tumors of the invasive micropapillary carcinoma cases were larger. In invasive micropapillary carcinoma, there was no case whose histological and nuclear degree was I. The presence of ductal carcinoma insitu component, vascular invasion and lymph node metastases rate were higher in cases with invasive micropapillary carcinoma. All these findings support that invasive micropapillary carcinoma has worse prognostic features compared to invasive ductal carcinoma. p53, ER, PR, cerb-B2 results were not significant in statistical analysis in comparison of two groups of tumors. In conclusion, we suggest that, if invasive micropapillary carcinoma is present even focally in a breast carcinoma, it should be clearly emphasized in pathology reports.

KEYWORDS: Invasive micropapillary carcinoma, invasive ductal carcinoma, breast carcinoma

GİRİŞ

Memenin invaziv mikropapiller karsinomu (İMPK) ilk olarak 1993 yılında Peterson, daha sonra Siriangeal- Tavassoli ve Luna tarafından tanımlanmış invaziv duktal karsinomun (İDK) nadir bir varyantıdır (1,2,3). İMPK, histolojik olarak artefaksial boşluklar içinde yuvalar halinde, eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşan tipik bir görünüme sahiptir. Bu görünüm genişlemiş anjiolenfatik damarlara benzer (2). Bu tip tümörler invaziv duktal karsinoma göre daha yüksek lenf nodu metastazı oranı ve kötü klinik gidiş ile karakterizedir (1).

Bu çalışmada invaziv mikropapiller karsinom tanısı alan 10 olgu yaş, tümör çapı, lenf nodu tutulumu, histolojik ve nükleer derece, vasküler invazyon (Vİ), duktal karsinoma in situ (DKİS) varlığı yanısıra hormon reseptör durumu, cerb-B2 ve p53 immünreaktivitesi açısından İDK tanılı 166 olgu ile karşılaştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümünde 2001 Ocak-2003 Haziran döneminde invaziv meme karsinomu tanısı almış 345 olgu tekrar gözden geçirildi. 242 olgu İDK ve in situ komponenti baskın İDK tanısı aldı. On olgu ise İMPK ve İMPK+İDK olarak değerlendirildi.

On İMPK olgusunun tümü, 242 İDK olgusunun ise 166 tanesi çalışmaya alındı. İDK olgularının bir tanesi

inoperabl kabul edildiğinden sadece kitle eksizyonu yapılmış, bir tanesine de sadece basit mastektomi uygulanmış, diğer İDK olgularına ve İMPK olgularının tamamına ise modifiye radikal mastektomi ve aksiller diseksiyon operasyonu yapılmıştı. İDK olgularının 65 tanesi ve 10 İMPK'lu olgunun 5 tanesi bölümümüze konsültasyon blokları olarak gönderilmişti.

Her iki tümör grubundaki olgulara ait HE boyalı kesitler; histolojik tip, histolojik ve nükleer derece, DKİS varlığı ya da yokluğu vasküler invazyon (Vİ) ve metastatik lenf nodu açısından tekrar incelendi. Aksiller durum, DKİS varlığı ve vasküler invazyon varlığı negatif veya pozitif olarak değerlendirildi. İDK olgularında histolojik dereceleme Modifiye Scarrf-Bloom-Richardson histolojik dereceleme sistemine göre yapıldı (4).

İMPK olgularında tipik İMPK alanları tümörün %75'inden fazlasını oluşturuyorsa saf olarak kabul edildi.

İmmünohistokimyasal çalışma için seçilen parafin bloklardan poly-lysine kaplı lamalara 5 mikronluk kesitler alındı. Avidin-Biotin Kompleks (ABC) immünperoksidaz yöntemi ile östrojen reseptörü (DAKO code no: N1575), progesteron reseptörü (DAKO code no: 1630), p53 (DAKO code no: 1581) ve cerb-B2 (Neomarkers) boyandı.

İDK olgularının üçüne ve İMPK olgularının da birine immünohistokimyasal çalışma yapmak mümkün olmadı. Bir İDK ve bir İMP olgusuna da yalnız ER ve PR uygulanabildi. Tümör hücrelerinin %10'undan azı ER, PR, p53 ve cerb-B2 ile boyanmış ise negatif, %10'undan fazlası boyanmış ise pozitif olarak değerlendirildi.

Çalışmaya alınan olgularımızdan elde edilen verilere göre parametrelerimiz iki tümör grubu arasında karşıla-

(The Turkish Journal of Pathology)

tırıldı. Yaş ve çap değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında Independent Samples t Test, diğer değişkenlerimizin gruplar arasında karşılaştırılmasında Chi-Square (Ki-Kare) testi kullanıldı.

Tüm istatistiksel analizlerimiz SPSS 11.00 for Windows istatistik paket programında %95 güven aralığında yapıldı. p değeri 0,05'ten büyük veya eşit ise istatistiksel olarak anlamsız; p<0,05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

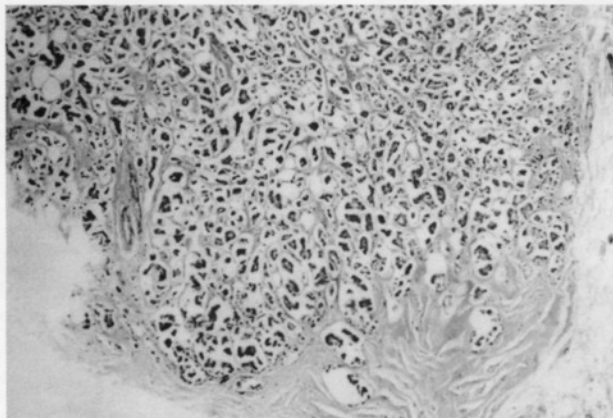
BULGULAR

Klinik özellikler: Çalışmaya alınan 166 İDK olgusunda ortalama yaş 52,7 (26-77), 10 İMPK olgusunda ise ortalama yaş 43 (21-68) idi. İDK'lar İMPK olgularına göre istatistiksel olarak anlamlı olacak tarzda daha ileri yaşta hastalarda saptandı. Ortalama çap İDK olgularında 3,56 cm (0,2-12 cm), İMPK olgularında ise 5 cm (1,5-14 cm) idi. İDK olgularından 54 olgu (%35,3) sağ meme, 97 olgu (%63,4) sol meme lokalizasyonlu olup, 2 olgu bilateral idi (İMPK olgularının ise 5'i (%62,5) sağ meme, 3'ü (%37,5) sol meme lokalizasyonlu idi. İki İMPK olgusunda lokalizasyon belli değildi.

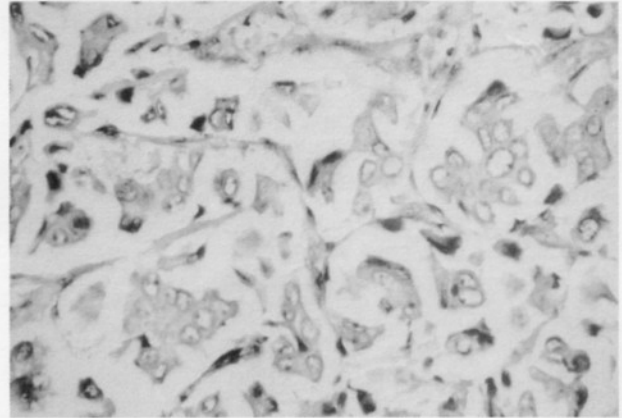
Histolojik özellikler: İMPK için tipik histopatolojik görünüm İDK'lardan farklı olarak desmoplastik stroma olmaksızın, çevrelerinde şeffaf boşluk bulunan papiller yapılar şeklinde idi (Resim1). Bu papillalar eozinofilik ya da amfofilik sitoplazmalı olup intermediate ya da yüksek nükleer dereceli idi (Resim 2). Papillaların çoğu abortif yapıda ve gerçek fibrovasküler yapılardan yoksun görünümde idi.

Modifiye Scarrf Bloom-Richardson derecelemesine göre İDK olgularının 35'i (%22,4) HD I, 99'u (%63,5) HD II ve 22'si (%14,1) HD III olarak değerlendirildi. On olgu ise otolitik değişikliklerden dolayı derecelendirilemedi. İMPK olgularının ise 8'i (%80) HD II, 2'si (%20) HD III olarak değerlendirildi (İMPK tanısı alan olguların 5'i (%50) ND II, 5 olgu (%50) ND III olarak değerlendirildi (İDK olgularının ise 24'ü (%15,3) ND I, 99'u (%63,1) ND II, 34'ü (%21,7) ND III olarak değerlendirildi. Dokuz İDK olgusunda nükleer derece değerlendirilemedi. İMPK olgularında HD ve ND I olan olgu yoktu.

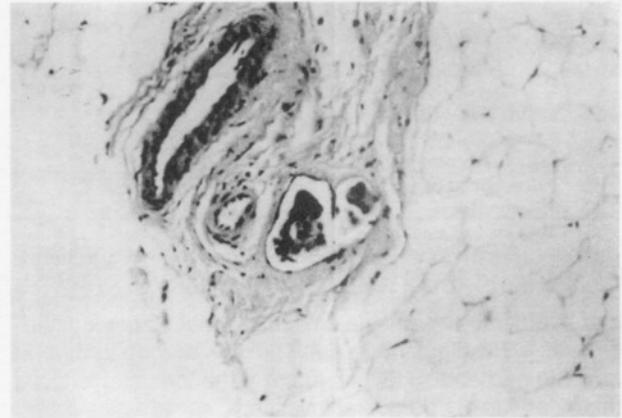
İstatistiksel açıdan değerlendirme yapılrken olgular



Resim 1: İMPK için tipik desmoplastik stroma olmaksızın çevrelerinde şeffaf boşluk bulunduran papiller yapılar. (HE x110)



Resim 2: İMPK'da nükleer derece II olan tümöral hücreler (HE x440)



Resim 3: İMPK olgusunda vasküler mesafede tümör trombüsü (HE x440)

HD I ve II-III olarak iki grupta; ND de benzer şekilde I, II ve III olarak gruplandı. Her iki tümör grubunda HD ve ND açısından istatistiksel anlamlılık saptanamamakla birlikte oransal olarak İMPK olgularının %100'ü HD ve ND 2-3 idi.

İDK olgularının 131'inde (%78,9) Vİ izlenmezken, 35'inde (%21,1) Vİ dikkati çekti (İMPK olgularının ise 5'inde (%50) Vİ görülmezken 5'inde (%50) Vİ mevcuttu (Resim 3). Vİ varlığı İMPK olgularında İDK olgularına göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla idi (p:0,049).

DKİS açısından ise 121 (%72,9) İDK olgusunda DKİS alanı izlenmezken, 45 (%27,1) olguda DKİS alanı mevcuttu. İMPK olgularının 2'sinde (%20) DKİS alanı yoktu, 8'inde (%80) ise DKİS alanı dikkati çekti. İMPK olgularındaki in situ komponent kribriform ya da mikropapiller tipide idi. DKİS varlığı, İMPK olgularında İDK'lara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla idi (p:0,001).

Aksiller durum incelendiğinde İDK olgularının 54'ünde (%33,8), İMPK olgularının ise 3'ünde (%30) 1-3 lenf noduna metastaz izlendi. 52 (%32,5) İDK olgusunda ve 6 (%60) İMPK olgusunda ise 3'ün üzerinde lenf nodu metastazı saptandı. İstatistiksel açıdan ise aksiller durum metastaz var ve yok olarak iki ayrı grupta değerlendirildi. İDK olgularının 106'sında (%66,3), İMPK olgularının ise 9'unda (%90) metastaz mevcuttu. Bu sonuç istatistiksel

TABLO 1: İKİ TÜMÖR GRUBUNUN HİSTOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

	IDK	İMPK	P
HD			
1	35 (%22,4)	0	0,122
2-3	121 (%77,6)	10 (%100)	
ND			
1	24 (%15,3)	0	0,360
2-3	133 (%84,7)	10 (%100)	
DKİS			
Negatif	121 (%72,9)	2 (%20)	0,001*
Pozitif	45 (%27,1)	8 (%80)	
VI			
Negatif	131 (%78,9)	5 (%50)	0,049*
Pozitif	35 (%21,1)	5 (%50)	
Aksilla			
Negatif	54 (%33,8)	1 (%10)	0,170
Pozitif	106 (%66,3)	9 (%90)	
İDK: İnvaziv duktal karsinom İMPK: İnvaziv mikropapiller karsinom DKİS: Duktal karsinoma in situ HD: Histolojik derece ND: Nükleer derece VI: Vasküler invazyon			

olarak anlamlı olmamakla birlikte oransal olarak incelendiğinde İMPK olgularında daha yüksek oranda lenf nodu metastazı izlendi. Her iki tümör grubuna ait histolojik özellikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

İmmünohistokimyasal bulgular: ER; İDK olgularının 85'i (%52,2), İMPK olgularının 2'si (%22,2) negatif grup olarak değerlendirildi. Buna karşılık 78 (%47,9) İDK olgusu ve 7 (%77,8) İMPK olgusu ER pozitif idi. PR; İDK olgularının 87'sinde (%53,4), İMPK olgularının 4'ünde (%44,4) negatif olarak değerlendirilirken, İDK olgularının 76'sında (%44,6), İMPK olgularının ise 5'inde (%55,6) pozitif idi.

Çalışmamızda p53, İDK olgularının 118'inde (%72,8), İMPK olgularının 4'ünde (%50) negatif olarak değerlendirilirken; 44 (%27,2) İDK olgusu, 4 (%50) İMPK olgusu pozitif olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda cerbB-2, İDK olgularının 29 (%18)'unda negatif olarak değerlendirilirken, İMPK olgularında negatif olan yoktu. 132 (%82) İDK olgusu ve 8 (%100) İMPK olgusu pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel olarak her iki tümör grubu arasında ER, PR, p53 ve cerbB-2 açısından anlamlı bir ilişki bulunamadı. İmmünohistokimyasal bulgular Tablo 2'de verilmiştir.

TARTIŞMA

İMPK, İDK'un nadir bir varyantı olup görülme sıklığı %2,7-%6 arasında değişmektedir (3,5). Bizim çalışmamızda ise bu oran %2,8 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda İMPK olgularında ortalama yaş 43, İDK olgularında ise 52,7 idi. Diğer çalışmalarda ise İMPK olgularının yaş ortalaması 50, 54, 58,8 olarak bildirilmiştir. (3,6,7) Bi-

zim çalışmamızda İMPK olguları, literatüre göre daha genç yaşta bulunmuştur.

İMPK histolojik kriterleri oldukça iyi tariflenmiş ancak pratikte çok fazla tanımlanmamıştır. Tümörün solid, molar ve daha az sıklıkla tübüler patern şeklinde düzenlenmiş, eozinofilik tümör hücrelerinden oluşmuş yuva paterni ile karakterli ve intermediate ya da yüksek nükleer dereceye sahip olduğu belirtilmektedir (3,6). Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu bir şekilde 10 İMPK olgusunun tamamında (%100) HD ve ND II ya da III düzeyinde olup derece I olan tümör yoktu. 166 İDK olgusunun 121'inde (%77,6) ise HD II ya da III, 133'ünde (%84,7) ND II ya da III idi.

İMPK'larda intraduktal karsinom komponenti varlığı dikkat çekici özelliiktir (3,5). Bir çalışmada DKİS'nin İMPK olgularında İDK'lara göre daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (3). Çalışmamızda da İDK ile İMPK, DKİS açısından karşılaştırdığımızda İMPK olgularında DKİS varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

İMPK'ların lenfotropik tümörler olduğu belirtilmektedir (3,5,6,7). Bizim çalışmamızda da vasküler invazyon İMPK olgularında, İDK'lara göre daha fazla olup istatistiksel olarak anlamlı idi.

Aksiller lenf nodu tutulumu bu İMPK'ların önemli özelliklerinden biridir. Bir çalışmada İDK olgularında lenf nodu tutulumu %88,8, İMPK'larda ise %100 bulunmuştur (3). Walsh ve arkadaşlarının çalışmasında ise İMPK olgularının %72,3'ünde lenf nodu pozitifliği bildirilmiştir (5). Paterakos'un çalışmasında bu oran %95 olarak belirtilmiştir (8). Bizim çalışmamızda İMPK olgularının %90'ında, İDK olgularının ise %66,3'ünde aksiller lenf nodu pozitifliği vardır.

ER ve PR pozitifliği klasik olarak iyi diferansiye (düşük-orta nükleer derece) tümörlerde beklenen durumdur. Walsh ve arkadaşlarının çalışmasında bu oran sıra ile %90 ve %70 olarak bulunmuştur (6). Başka bir çalışmada ER ve PR pozitifliği sıra ile %72,7 ve %45,4 olarak belirtilirken Middleton ve arkadaşlarının çalışmasında %25

TABLO 2: İKİ TÜMÖR GRUBUNDAKİ İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

	IDK	İMPK	p
ER			
Pozitif	78 (%47,9)	7 (%77,8)	0,097
Negatif	85 (%52,1)	2 (%22,2)	
PR			
Pozitif	76 (%46,6)	5 (%44,4)	0,736
Negatif	87 (%53,4)	4 (%55,6)	
P53			
Pozitif	44 (%27,2)	4 (%50)	0,224
Negatif	118 (%72,8)	4 (%50)	
CerbB2			
Pozitif	132 (%82,0)	8 (%100)	0,354
Negatif	29 (%18,0)	0	
İDK: İnvaziv duktal karsinom İMPK: İnvaziv mikropapiller karsinom ER: Östrojen reseptörü PR: Progesteron reseptörü			

(The Turkish Journal of Pathology)

ve %12,5 olarak bulunmuştur (7,9). Bizim çalışmamızda ise ER %55,6, PR %44,4 oranında pozitifdir. Bu tümörlerin orta ve yüksek nükleer ve histolojik dereceye sahip olduğu dikkate alınacak olursa ER ve PR pozitifliği oldukça yüksek bir düzeydedir. İDK olgularımızla hormon reseptör durumu karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlam saptanamamıştır.

Mutant tümör süpresör geni p53, hücre bölünmesine G1\S sınırında durdurur. p53 süpresör geninde meydana gelen allel kayıpları ve mutasyonlar, proteinin (Tp53) tümör baskılayıcı etkinliğini ortadan kaldırırken, bazı mutasyonlar da proteine onkogenik aktivite kazandırabilir (9,10). Bu mutasyonlar genellikle genin belirli, korunmuş bölgelerinde meydana gelir ve proteinin yarı ömrünü uzatıp, kümeleşmesine ve immunohistokimyasal olarak izlenebilir hale gelmesine neden olur. p53 mutasyonları normal dokuda görülmemektedir (10,11).

CerbB-2 olarak da bilinen HER-2\neu onkogeni, erb B onkogen ailesindedir. Bu protoonkogenler, hücre bölünmesine ve farklılaşmasına katılırlar. Ancak gen yapısında bir değişiklik meydana geldiğinde gen amplifikasyonu ve aşırı ekspresyonu nedeniyle kanser patogenezi katılan bu onkogen, meme kanseri için önemli bir prognostik belirleyici olarak kabul edilmektedir (12,13).

CerbB-2 ve p53 az diferansiye ve yüksek nükleer dereceli tümörlerde pozitifdir. Bizim çalışmamızda p53 pozitif İMPK olgusu yoktu. Ancak cerbB-2 %87,5 olguda pozitif idi. Walsh'un çalışmasında cerbB-2 %60 oranında pozitif olarak belirtilmiştir (6). Luna ve arkadaşlarının çalışmasında ise p53 %12,1, cerbB-2 %36,3 oranında pozitif olarak bildirilmiştir (9). Çalışmamızda p53 ve cerbB-2 onkogenleri iki tümör grubunda karşılaştırıldığında Luna'nın çalışmasında (9) olduğu gibi belirgin farklılık göstermemiştir.

Çalışmamızda takip süresi kısa olduğu için sağ kalım süresi değerlendirilememiştir. Yaşam süresi değerlendirilen çalışmalarda İMPK'ların daha agresif seyirli olduğu vurgulanmıştır (3,7,8). Tümördeki İMPK alanlarının oranı dikkate alınarak yapılan bir çalışmada, tümörde bu morfolojinin, klinik gidişi etkilediği sonucuna varılmıştır (5). Tümörde İMPK morfolojisine sahip alanlar mevcut ise, patoloji raporlarında, tanımlayıcı bir terim olarak, invaziv mikropapiller diferansiyasyonun vurgulanması gerektiği savunulmaktadır (5).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda İMPK olgularında DKİS alanları ve vasküler invazyon görülme oranı İDK olgularına göre daha fazladır ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. İMPK olgularımız yüksek nükleer ve histolojik dereceye sahiptir. Aksiller lenf nodu tutulumu iki tümör grubu arasında istatistiksel anlamlılık göstermemiş olmakla birlikte oransal olarak İMPK olgularımızda daha fazla tutulum vardır. ER, PR, p53 ve cerbB-2 immünreaktivitesi iki tümör grubu arasında karşılaştırıldığında dikkat çekici farklılık izlenmedi. Bütün bu bulgular İMPK'ların İDK' lara göre daha kötü prognostik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bir meme karsinomunda İMPK'a ait histopatolojik görünüm fokal alanlarda bile mevcut ise patoloji raporunda belirtilmesi gerektiğini öneriyoruz.

KAYNAKLAR

1. Petersen JL. Breast carcinomas with an unexpected inside out growth pattern. Rotation of polarisation associated with angiogenesis. *Pathol Res Pract* 1993; 189:780 (abstr).
2. Siriaunkgul S, Tavassoli FA. Invasive micropapillary carcinoma of the breast. *Mod Pathol* 1993; 6: 660-662.
3. Luna-More S, Gonzalez B, Acedo C, Rodrigo I, Luna C. Invasive micropapillary carcinoma of the breast. A new special type of invasive mammary carcinoma. *Pathol Res Pract* 1994; 190: 668-74.
4. FA Tavassoli (ed.) General Consideration, In *Pathology of the Breast*. Second ed. Stamford Appleton & Lange, 1999; p: 43-46.
5. Nassar H, Wallis T, Andea A, Dey J, Adsay V, Visscher D. Clinicopathologic analysis of invasive micropapillary differentiation in breast carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14: 836-842.
6. Walsh MM, Ira A, Bleiweiss J. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: eighty cases of an underrecognized entity. *Hum Pathol* 2001; 32(6): 583-9.
7. Middleton LP, Tressera F, Sobel ME, et al. Infiltrating micropapillary carcinoma of the breast. *Mod Pathol* 1999; 12:499-504.
8. Paterakos M, Watkin WG, Edgerton SM, et al. Invasive micropapillary carcinoma of the breast: A prognostic study. *Hum Pathol* 1999; 30: 1459-1463.
9. Luna-More S, de los Santos F, Breton JJ, et al. Estrogen and progesterone receptors, cerbB-2, p53 and bcl-2 in thirty-three invasive micropapillary breast carcinomas. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 27-32.
10. Erhan Y. Meme Kanseri onkogenler ve tumor süpresör genlerin rolü. *Türk Patoloji Dergisi* 1995; 11-2; 40-42.
11. Duffy MJ. Cellular oncogenes and suppressor genes as prognostic markers in cancer. *Clin Biochemistry* 1993; 26(3): 439-447.
12. Paik S, Hazar R, Fisher H et al: Pathologic Findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: Prognostic significance of erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1990; 8; 103-112.
13. Öztürk M. Onkogenler ve meme kanseri. *Meme Hastalıkları Dergisi* 1994; 1(4); 3-9.