

Migren Tipi ve Gerilim Tipi Baş Ağrıları Bulunan Hastalarda Pirüvik ve Laktik Asit Seviyeleri

Yavuz Altunkaynak¹, Musa Öztürk¹,
Devrimsel Harika Ertem¹,
Betül Güveli², Filiz Uzun Okay³,
Zerrin Yıldırım⁴, Belgin Mutluay¹,
Ayten Ceyhan Dirican¹,
Emine Altunkaynak⁵,
Ayhan Köksal¹, Sevim Baybaşı⁶

¹Nörolog, ²Nöroloji Asistanı, ³Doç. Dr., Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul - Türkiye
²Nörolog, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul - Türkiye
³Nörolog, Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul - Türkiye
⁵Biyokimya Uzmanı, Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Bölümü, İstanbul - Türkiye

ÖZET

Migren tipi ve gerilim tipi baş ağrıları bulunan hastalarda pirüvik ve laktik asit seviyeleri

Amaç: Bir mitokondriyal sitopati olan MELAS (Mitokondriyal miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inme benzeri epizotlar) sendromuna migren tipi baş ağrıları sıklıkla eşlik eder. Bu nedenle, migren ile mitokondriyal bozukluklar arasındaki ilişki ilgi çekicidir. Ayrıca gerilim tipi baş ağrıları da mitokondriyal anormallikler incelenmektedir. Biz de migrenli ve gerilim tipi baş ağrıları mitokondriyal bozukluk varlığını araştırmak amacıyla serum laktik ve pirüvik asit düzeylerini ölçmeyi ve bu değerleri sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmaya, Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu'nun (IHS) 2004 sınıflama sistemine göre tanı almış 30 migrenli, 30 gerilim tipi baş ağrılı hasta ve 30 sağlıklı kontrol alındı. Çalışmaya katılanlardan alınan örneklerde serum laktik ve pirüvik asit düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle çalışıldı. İstatistiksel analizler için SPSS programında Kruskal-Wallis Testi ve Mann-Whitney testleri kullanıldı.

Bulgular: Migren ve gerilim tipi baş ağrısı olan hastaların serum laktik ve pirüvik asit düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: Migrenli ve gerilim tipi baş ağrılı hastalarda mitokondriyal bozuklukların araştırılması için geniş çaplı multidisipliner araştırmalar gereklidir.

Anahtar kelimeler: MELAS, migren, mitokondriyal bozukluklar, laktik asit, pirüvik asit



ABSTRACT

Serum lactic acid and pyruvic acid levels in patients with migraine and tension type headache

Objective: MELAS (mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes) syndrome is frequently associated with migraine like headaches. The relationship between migraine and mitochondrial diseases is interesting. Also mitochondrial disorders in tension like headache still remain to be investigated. The aim of this report is to evaluate the serum lactic acid and pyruvic acid levels in patients with migraine and tension type headache and compare them with healthy control group.

Methods: We evaluated 30 patients with migraine, 30 patients with tension like headache and 30 healthy control. Lactic and pyruvic acid levels in serum samples were measured by biochemical methods. Kruskal Wallis and Mann-Whitney tests were used for statistical analysis using SPSS 11.5 for Windows program.

Results: Serum lactic and pyruvic acid levels in patients with migraine and tension type headache were significantly higher than control group.

Conclusion: Multi-disciplinary researches are needed to determine mitochondrial diseases in patients with migraine and tension like headache.

Key words: MELAS, migraine, mitochondrial diseases, lactic acid, pyruvic acid

Yazışma adresi / Address reprint requests to:
Nörolog Devrimsel Harika Ertem,
Prof. Dr. Mazhar Osman Bakırköy Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul - Türkiye

Telefon / Phone: +90-212-543 6565/1920

Elektronik posta adresi / E-mail address:
hkaozhan@gmail.com

Geliş tarihi / Date of receipt:
20 Mayıs 2012 / May 20, 2012

Kabul tarihi / Date of acceptance:
31 Ağustos 2012 / August 31, 2012

GİRİŞ

Son yıllarda migren patofizyolojisini anlamaya yönelik olarak yapılan araştırmalar endotel kaynaklı vazoaaktif maddeler, yayılan kortikal depresyon ve özellikle auralı migrenlilerde beyin enerji metabolizması üzerine odaklanmıştır. Migrenli hastalarda trigemino-vasküler sistemin aktive olmasıyla birlikte başlayan süreçte gelişen beyin metabolizması değişiklikleri ve artan oksidatif stres, mitokondri enerji transport zincirinde de bozulmaya neden olur. Mitokondriyal sitoplatiler; nükleer DNA veya mitokondriyal DNA tarafından kodlanan mitokondriyal proteinlerin veya transfer RNA ve ribozomal RNA'nın mutasyonu (primer) ya da bazı ilaçlar, toksinler, infeksiyonlar vb. ekzojen faktörlerden dolayı (sekonder) sentezlenememesi sonucu gelişen ve değişik klinik tablolarla ortaya çıkan bir hastalık grubudur. Mitokondriyal proteinlerin çoğu solunum zinciri ve oksidatif fosforilasyonda görev aldığı için, bu duruma solunum zinciri bozuklukları da denilir.

MELAS; serebrovasküler olaylar, laktik asidoz ve miyopati ile karakterize bir mitokondriyal hastalıktır (1). Hastalık seyri sırasında epileptik nöbetler ve migrenöz karakterde baş ağrıları görülebilir. MELAS'lı hastalarda tipik semptomlar ortaya çıkmadan önce hastaların uzun süre yalnızca migren atakları yaşadıkları bilinmektedir (2). Özellikle radyoloji alanındaki gelişmeler, MELAS hakkındaki bilimsel çalışmaların önünü açmıştır.

Son yıllarda yapılan bazı magnetik rezonans (MR) ve MR spektroskopisi çalışmalarında, migren hastalarında mitokondriyal anormalliklerinin olabileceği ileri sürülmüştür (3). Hücre içi mitokondriyal enerji transportu sırasında pirüvik asit (PA) karbohidrat ve yağlardan oluşur, mitokondriyal dış membran boyunca diffüze olup, mitokondri içinde trikarboksilik asit siklusunda laktik aside (LA) dönüşür. Bu nedenle, mitokondriyal enerji transportu anormalliklerinde PA ve LA plazmada artar. Bu araştırmada, Uluslararası Baş Ağrısı Derneği 2004 sınıflamasına göre (4) tanı almış migren tipi ve gerilim tipi baş ağrısı bulunan hastalarda mitokondriyal fonksiyon anormalliklerinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

Mitokondriyal anormalliklerin varlığını aydınlatmak amacıyla hastaların serumlarında PA ve LA seviyeleri ölçülerek sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır.

YÖNTEM

Çalışmaya, Ekim 2010 - Aralık 2010 tarihleri arasında Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran, Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu (IHS) 2004 sınıflamasına göre tanısı konulmuş, her iki cinsten görülme oranına uyacak şekilde, 20'si kadın 10'u erkek 30 migrenli (15 auralı+15 aurasız) hasta ile aynı yaş ve sayıda gerilim tipi baş ağrısı olan 30 hasta alındı. Kontrol grubu, hastalarla benzer demografik özellikleri olan sağlıklı gönüllülerden oluştu. Son altı aydır profilaktik migren tedavisi alan, serum laktik ve pirüvik asit düzeylerini etkileyebilecek bilinen hastalığı olan, sigara içen, başka bir amaçla düzenli ilaç kullanan, hamileliği olan, diyabet ve başka bir otoimmün hastalığı bulunanlar çalışma dışı bırakıldı.

Serum LA ve PA düzeylerini değiştirebilecek fiziksel egzersizin etkisini dışlamak için, kan örnekleri baş ağrısız dönemde, saat 09-11 arasında, 15 dakika veya daha uzun süren istirahatenden sonra, oturur pozisyonda, kübital venden, 21 çap no'lu enjektörle alındı. 0.5 ml kan örneği süratle 1.5 ml'ye tamamlandı. Eppendorf tüpleri (0.8 N soğutulmuş perklorik asit) içinde santrifüj edildi ve birkaç dakika için buza kondu. Daha sonra 15 dakikalık 1200 g santrifüj ile proteini ayrılan örnek -20°C'de ölçüme dek saklandı.

Plazma LA Seviyelerinin Ölçümü: Plazma LA seviyeleri, Determiner LA kitleri kullanılarak ölçüldü. Hasta örnekleri ve standart örnekler, N-etil-N-(3 metil fenil)-N asetiletildiamin solüsyonuyla 37°C'de 3 dakika inkübe edildi. Laktik oksidaz eklenen karışım 37°C'de 4.5 dakika bekletildi. Renk intensitesi, 660/600 nm'de, dual-boylu spektrofotometre ile ölçüldü.

Plazma PA Seviyelerinin Ölçümü: Plazma PA seviyeleri, Determine PA kitleri ile ölçüldü. Hasta örnekleri ve standart örnekler peroksidazla 37°C'de 3 dakika inkübe edildi. Bis (3-bis (4 klorfenil) metil 4 dimetil aminofenil) amin solüsyonu ve pirüvat oksidaz eklenerek elde edilen karışım 37°C'de 4-5 dakika bekletildi. Renk intensitesi, 800/750 nm'de dual-dalga boylu spektrofotometre ile ölçüldü.

Tablo 1: Migren, gerilim tipi baş ağrısı ve kontrol grubunda ortalama LA ve PA düzeyleri

	Serum LA düzeyleri (mg/dL) Ortalama±SS	Serum PA düzeyleri (mg/dL) Ortalama±SS
Auralı migren	10.5±3.3	0.3±0.18
Aurasız migren	9.6±2.5	0.51±0.16
Gerilim tipi baş ağrısı	8.2±1.8	0.47±0.15
Kontrol grubu	3.3±1.1	0.26±0.10

LA: Laktik asit, PA: Pirüvik asit, SS: Standart Sapma

Tablo 2: Migren, gerilim tipi baş ağrısı ve kontrol grubunun laktik asit düzeyleri açısından kıyaslanması

Serum düzeyi	Grup türü	t-değeri	p
Serum LA			
Auralı migren	Aurasız migren	1.745	>0.05
Migren	Kontrol grubu	3.523	<0.001
Migren	Gerilim tipi baş ağrısı	1.692	>0.05
Gerilim tipi baş ağrısı	Kontrol grubu	3.982	<0.001
Serum PA			
Auralı migren	Aurasız migren	1.546	>0.05
Migren	Kontrol grubu	3.471	<0.001
Migren	Gerilim tipi baş ağrısı	1.612	>0.05
Gerilim tipi baş ağrısı	Kontrol grubu	3.892	<0.001

LA: Laktik asit, PA: Pirüvik asit, t: Student T testi

İstatistiksel analizde, SPSS for Windows 11.5 paket programında Student t testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Plazma LA Seviyeleri: Ortalama LA seviyesi aurasız migrenli hastalarda 9.6 ± 2.5 mg/dL, auralı migrenli hastalarda 10.5 ± 3.3 mg/dL, gerilim tipi baş ağrılı hastalarda 8.2 ± 1.8 mg/dL, kontrol grubunda 3.3 ± 1.1 mg/dL olarak bulundu. Migrenli hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, LA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulundu ($p < 0.001$). Migrenli hastalarda serum LA konsantrasyonları, gerilim tipi baş ağrılı hastalardakine kıyasla sayısal olarak daha yüksek olmasına rağmen, fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$).

Migrenli hastalar auralı ve aurasız diye incelendiğinde, LA seviyeleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Gerilim tipi baş ağrılı hastalarda LA düzeyleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$).

Plazma PA Seviyeleri: Ortalama PA seviyesi aurasız migrenli hastalarda 0.51 ± 0.16 mg/dL, auralı migrenli hastalarda 0.53 ± 0.18 mg/dL, gerilim tipi baş ağrılı hastalarda 0.47 ± 0.15 mg/dL, kontrollerde 0.26 ± 0.10 mg/dL olarak bulundu. Migrenli hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulundu ($p < 0.001$). Migrenli hastalarda plazma PA konsantrasyonları gerilim tipi baş ağrılı olanlardan daha yüksek olmasına rağmen, fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$).

Migrenli hastalar auralı ve aurasız diye incelendiğinde, PA seviyeleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Gerilim tipi baş ağrılı olanlarda PA düzeyleri ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.001$) (Tablo 1 ve 2).

TARTIŞMA

Migren aura patofizyolojisi, günümüzde, kortikal yayılan depresyon ile açıklanmaktadır (5). İlk kez Lao tarafından tariflenen kortikal yayılan depresyonda nöronal bir hipereksitabilite halini takiben gelişen

hiperperfüzyonu, hipoperfüzyon ve yayılan oligemi izler. Oligemi sırasında anaerobik glikozillenme ve oksidatif stres daha fazla gelişir. Oligemi hiç bir zaman eşik noktayı aşmaz ve genelde atrial natriüretik peptid gibi vazodilatör kompanseuar belirteçlerle oligemi hasarı azaltılır. Bu nedenle, auralı migrenlilerde anaerobik glikozillenme daha belirgin olduğundan, beyinde pH değişiklikleri ve glikozillenme ürünlerinde (laktat+pirüvat) yükselme saptanması beklenir. Bu durum da bizim sonuçlarımızla uyum göstermektedir. Auralı migreni olan hastalarda özellikle aura ve atak esnasında, aurasızlarda ise atak esnasında serum laktat ve pirüvat düzeylerini ölçmek çalışmayı daha değerli kılabildi. Hastalardan atak ve aura döneminde kan almayı ise teknik zorluklardan dolayı gerçekleştiremedik. İleride aura ve atak döneminde yapılacak çalışmalar bizi daha değerli bilgilere ulaştırabilir.

MELAS sendromu, ilk kez 1984 yılında tanımlanan, her iki cinste eşit sıklıkta görülen, anne tarafından genetik olarak aktarılan bir mitokondriyal bozukluktur (1). Erken bulgular genellikle çocukluk çağından hemen sonra kas güçsüzlüğü, tekrarlayan migrenöz karakterli baş ağrıları olarak belirir.

İnme benzeri epizotlar genellikle 40 yaşından önce ortaya çıkar ve tekrarlayan ataklar vasküler demansa neden olabilir (6). Hastalık seyri boyunca görülen ve genelde ilk semptom olan migrenöz karakterli baş ağrılarının varlığı birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve migrenin bir mitokondri hastalığı olabileceği düşünülmüş, bu yönde araştırmalar yapılmıştır. MELAS'ta mitokondriyal disfonksiyonun nasıl oluştuğu tartışmalıdır. Kabul edilen görüş, hastalığın mitokondriyal tRNA mutasyonuna bağlı olduğu yönündedir. Mitokondriyal tRNA mutasyonunu bildiren pek çok çalışma mevcuttur (7-13). Mitokondriyal anormallikler heteroplazmi ile karakterizedir. Semptomların manifestasyonu mitokondriyal anormalliklerin lokalizasyonuna bağlıdır. Mitokondriyal hastalıklarda migren prevalansının yüksek bulunması birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve migrenli hastalarda oksidatif stresin yanında mitokondriyal fonksiyon bozukluğu da araştırılmış, bu amaçla serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) laktat - pirüvat düzeyleri ölçülmüştür. Skinhoz (14) ve Uotanobe ve Kuvabasa (15) ilk kez migren

atağı sırasında BOS'da yüksek LA seviyesi olduğunu göstermişlerdir. Hemen sonrasında Montagno ve arkadaşları (16), efor sırasında serum LA seviyesinin migrenli hastalarda, kontrol grubundan anlamlı olarak daha fazla yükseldiğini bildirmişler ve bunun migrende mitokondriyal enerji metabolizmasındaki bir bozukluğa bağlı olduğunu ileri sürerek, migrenlilerde beyin ve iskelet kası enerji metabolizmasının anormal olduğunu, magnetik rezonans spektroskopisi tekniği ile göstermişlerdir (17). Son dönemlerde yapılan SPECT çalışmalarında, migrende değişen oksidan dengenin, artmış oksidatif stres ve lipid peroksidasyonun mitokondriyal bozukluğa neden olduğu ileri sürülmektedir (18). Gerilim tipi baş ağrılarında saptanan yüksek LA ve PA düzeylerinden uzamış kas kontraksiyonları sorumlu tutulmuştur (19). Okada ve arkadaşlarının (20) yaptığı bir çalışmada, serum laktat ve pirüvik asit seviyelerinin migrenlilerde anlamlı olarak yüksek saptandığı, gerilim tipi baş ağrılarıdaysa serum seviyelerinde bir artış olmadığı bildirilmiştir.

Bu çalışmamızda, hem auralı hem de aurasız migrenli hastalarda ve gerilim tipi baş ağrısı olanlarda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek LA ve PA seviyeleri saptadık. Lokal kan akımı değişikliklerinin daha belirgin olduğu auralı migren hastalarında mitokondriyal metabolizma değişiklikleri ve dolayısıyla laktik ve pirüvik asit düzeylerindeki artış, beklenildiği gibi daha belirgindir. Sonuçlarımız, migrenli hastalarda mitokondriyal anormalliklerin eşlik edebileceğini düşündürmüştür. Ancak olgu sayısının azlığı nedeniyle, auralı migren alt grupları kendi aralarında karşılaştırılamamış ve serum LA-PA düzeyleriyle ağrı özellikleri arasındaki ilişki incelenememiştir.

Genetik geçişinin Mendelyen olarak kalıtıldığı ailevi hemiplejik migrenli hastalarda saptanan genetik bozukluğun patofizyolojik olarak ağrıyı nasıl etkilediği bilinmemektedir. Belki bu tip özel migren gruplarında mitokondriyal bozukluğun araştırılması, bizi daha anlamlı sonuçlara ulaştırabilir.

Eksikliklerine rağmen, çalışmamızın bu yöndeki gelecek araştırmalar için referans olabileceğini düşünmekteyiz. Yapılacak genetik çalışmalarda, biyokimyasal, nöropatolojik, radyolojik araştırmaların ve beyin

metabolizması incelemelerinin birlikte yapılması uygun olacaktır. Migrenli hastalarda vücut sıvılarında mitokondriyal tRNA'nın DNA analiziyle birlikte ve

mitokondriyal belirteçlerin invivo olarak serebrumda araştırılması özellikle mitokondriyal anormalliğin aydınlatılması konusunda yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Wong LJ. Mitochondrial syndromes with leukoencephalopathies. *Semin Neurol* 2012; 32:55-61.
2. Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, De Vivo DC, Rowland LP. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 1984; 16:481-488.
3. Tsujikawa T, Yamamoto T, Ikawa M, Yoneda M, Kimura H. Crossed cerebellar hyperperfusion after MELAS attack followed up by whole brain continuous arterial spin labeling perfusion imaging. *Acta Radiology* 2012; 53:220-224.
4. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders Second ed. *Cephalalgia* 2004; 24 (Suppl.1):9-160.
5. Buzzi MG, Moskowitz MA. The pathophysiology of migraine. *J Headache Pain* 2005; 6:105-111.
6. Hirano M, Pavlakis SG. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke like episodes (MELAS): current concepts. *J Child Neurol* 1994; 9:4-13.
7. Desquiret-Dumas V, Gueguen N, Barth M, Chevrollier A, Hancock S, Wallace DC, Amati-Bonneau P, Henrion D, Bonneau D, Reynier P, Procaccio V. Metabolically induced heteroplasmy shifting and l-arginine treatment reduce the energetic defect in a neuronal-like model of MELAS. *Biochim Biophys Acta* 2012; 24:12-15.
8. Emmanuele V, Silvers DS, Sotiriou E, Tanji K, DiMauro S, Hirano M. MELAS, MERRF and Kearns-Sayre overlap syndrome due to the mitochondrial DNA m.3291T>C mutation. *Muscle Nerve* 2011; 44:448-451.
9. Suzuki T, Nagao A, Suzuki T. Human mitochondrial diseases caused by lack of taurine modification in mitochondrial tRNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2011; 2:376-386.
10. Wojewoda M, Zabłocki K, Szczepanowska J. Diseases caused by mutations in mitochondrial DNA. *Postepy Biochem* 2011; 57:222-229.
11. Mende S, Royer L, Herr A, Schmiedel J, Deschauer M, Klopstock T, Kostic VS, Schroeder M, Reichmann H, Storch A. Whole blood genome wide expression profiling and network analysis suggest MELAS master regulators. *Neurol Res* 2011; 33:638-655.
12. Glatz C, D'Aco K, Smith S, Sondheimer N. Mutation in the mitochondrial tRNA(Val) causes mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes. *Mitochondrion* 2011; 11:615-619.
13. Pilch J, Asman M, Jamroz E, Kajor M, Kotrys-Puchalska E, Goss M, Krzak M, Witecka J, Gmiński J, Sieroń AL. Surveyor nuclease detection of mutations and polymorphisms of mtDNA in children. *Pediatr Neurol* 2010; 43:325-330.
14. Skinhoz E. Hemodynamic changes in migraine aura. *Arch Neurology* 1973; 29:95-98.
15. Uotanobe H, Kuvabasa T. A Migraine study on MRI findings cerebral lactat levels. *Acta Radiology* 1986; 30:21:123-126.
16. Montagno P. Mitochondrial abnormality in migraine. *Headache* 1998; 28:477-480.
17. Montagno P. MR spektroskopiyi in migraine sufferes. *Cephalalgia* 1994; 14:184-193.
18. Aoyagi J, Ikeda K, Kiyozuka T, Hirayama T, Ishikawa Y, Sato R, Yoshii Y, Kawabe K, Iwasaki Y. Alleviation of brain hypoperfusion after preventative treatment with lomerizine in an elderly migraineur with aura. *Int J Mol Imaging* 2011; 2011:782758.
19. Ashina M, Stallknecht B, Bendtsen L, Pedersen JF, Galbo H, Dalgaard P, Olesen J. In vivo evidence of altered skeletal muscle blood flow in chronic tension-type headache. *Brain* 2002; 125:320-326.
20. Okada H, Araga S, Takeshima T, Nakashima K. Plasma lactic acid and pyruvic acid levels in migraine and tension-type headache. *Headache* 1998; 38:39-42.