

实验室指标和评分系统对急性胰腺炎患者病情严重程度及早期预后的评估价值*

张娟¹ 章润叶¹ 杨淑洁¹ 谢荣裕¹

[摘要] 目的:探讨中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、血尿素氮(BUN)、红细胞分布宽度(RDW)与 BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分对急性胰腺炎(AP)患者病情严重程度及 28 d 病死率的预测价值。**方法:**回顾性纳入 2016 年 1 月—2019 年 9 月期间在我院住院治疗的 AP 患者 151 例,根据病情严重程度分为轻症急性胰腺炎(MAP)组、中度重症急性胰腺炎(MSAP)组、重症急性胰腺炎(SAP)组,对患者基础资料、实验室指标及不同评分系统的差异进行分析,通过 ROC 曲线分别计算各指标预测 SAP 及 AP 患者 28 d 病死率的临界值、AUC 等。**结果:**①MAP、MSAP、SAP 组间的 NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。②死亡组 NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分均显著高于生存组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。③NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分及 APACHE II 评分,预测 SAP 的 AUC 分别为 0.761、0.768、0.914、0.928、0.830、0.830、0.837,预测 AP 患者 28 d 病死率的 AUC 分别为 0.760、0.843、0.949、0.817、0.751、0.934、0.814。④实验室指标中,RDW 相比 NLR、BUN 对 SAP、AP 患者 28 d 病死率的预测价值更好。评分系统中,BISAP 评分对 SAP 的预测价值更好,SOFA 评分对 AP 患者 28 d 病死率的预测价值更好。**结论:**NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分对 SAP 及 AP 患者 28 d 病死率均有预测价值。实验室指标中,RDW 对 AP 患者病情严重程度及预后的预测价值更好;评分系统中,BISAP 评分对 AP 患者病情严重程度预测价值更好,SOFA 评分对 AP 患者预后的预测价值更好。

[关键词] 急性胰腺炎;评分系统;严重程度;预后

DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2021.01.011

[中图分类号] R657.51 **[文献标志码]** A

Evaluation value of laboratory indexes and scoring system on the severity and early prognosis of patients with acute pancreatitis

ZHANG Juan ZHANG Runye YANG Shujie XIE Rongyu

(Intensive Care Unit, Rugao Hospital, Nantong University, Rugao, Jiangsu 226500, China)

Corresponding author: ZHANG Runye, E-mail: ggdm123nt@163.com

Abstract Objective: To investigate the neutrophil-lymphocyte ratio(NLR), blood urea nitrogen(BUN), red blood cell distribution width(RDW) and BISAP score, Ranson score, SOFA score, and APACHE II score in patients with acute pancreatitis(AP). Predictive value of severity and 28-day mortality. **Methods:** A total of 151 patients with AP who were hospitalized in Rugao Hospital, Nantong University from January 2016 to September 2019 were retrospectively included. They were divided into mild acute pancreatitis(MAP) group and moderate severe acute pancreatitis(MSAP) according to their severity) Group, severe acute pancreatitis(SAP) group, analysis of the patient's basic data, laboratory indicators and differences in different scoring systems, using ROC curve to

*基金项目:江苏省卫生计生委 2016 年度青年科研课题(No:Q201612)

¹南通大学附属如皋医院重症监护室(江苏如皋,226500)

通信作者:章润叶,E-mail:ggdm123nt@163.com

[8] 宗晓龙,李真玉,魏殿军,等.肺泡表面活性蛋白 D、血管性血友病因子及白介素 8 对脓毒症诱发急性呼吸窘迫综合征的预测和预后意义[J].临床检验杂志,2017,35(2):118-121.

[9] 左蕾,吴永红,拜合提尼沙·吐尔地.脓毒症患者外周血小板-白细胞聚集体及其分类水平对合并 ARDS 的预测价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(8):955-958,963.

[10] Zhao H, Liu Z, Liu W, et al. Betulin attenuates lung and liver injuries in sepsis[J]. Int Immunopharmacol, 2016,30:50-56.

[11] 刘焯,杜重伯,张雨霄,等.脓毒症发病机制进展[J].中国误诊学杂志,2019,14(01):28-32.

[12] Yang AP, Liu J, Yue LH, et al. Neutrophil CD64 combined with PCT, CRP and WBC improves the sensitivity for the early diagnosis of neonatal sepsis[J]. Clin Chem Lab Med, 2016,54(2):345-351.

[13] 陈琛,苏华,蒋丽娜,等. TNF- α 和 IL-10 与重症脓毒症患者预后的相关性研究[J].陕西医学杂志,2016,45(12):1600-1601.

(收稿日期:2020-06-12)

calculate the indicators to predict the 28-day mortality threshold and AUC of SAP and AP patients respectively Wait. **Results:** ① There were significant differences in NLR, BUN, RDW, BISAP score, Ranson score, SOFA score, and APACHE II score between the three groups of MAP, MSAP, and SAP (all $P < 0.01$). ② NLR, BUN, RDW, BISAP score, Ranson score, SOFA score, and APACHE II score in the death group were significantly higher than those in the survival group, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). ③ NLR, BUN, RDW, BISAP score, Ranson score, SOFA score, and APACHE II score. The predicted AUC of SAP is 0.761, 0.768, 0.914, 0.928, 0.830, 0.830, 0.837, and the 28-day mortality rate of AP patients is predicted. The AUCs are 0.760, 0.843, 0.949, 0.817, 0.751, 0.934, and 0.814, respectively. (4) Among laboratory indicators, RDW has better predictive value of 28-day mortality for SAP and AP patients than NLR and BUN. In the scoring system, BISAP score has a better predictive value for SAP, and SOFA score has a better predictive value for 28-day mortality of AP patients. **Conclusion:** NLR, BUN, RDW, BISAP score, Ranson score, SOFA score, APACHE II score have predictive value for 28-day mortality of SAP and AP patients. Among laboratory indicators, RDW has a better predictive value for the severity and prognosis of AP patients; in the scoring system, BISAP score has a better predictive value for AP patients' disease severity, and SOFA score has a better predictive value for AP patients' prognosis.

Key words acute pancreatitis; scoring system; severity; prognosis

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是一种局部胰腺损伤导致胰酶释放引起的全身炎症反应性疾病,分为轻症 AP (mild acute pancreatitis, MAP)、中度重症 AP (moderately severe acute pancreatitis, MSAP) 以及重症 AP (severe acute pancreatitis, SAP), AP 的年全球发病率为每 10 万人 34 例,总体病死率约 5%^[1-2]。尽管大多数患者都是轻症且预后也较好,但仍有 15%~20% 的患者发展成重症^[3]。研究表明 SAP 有两个死亡高峰,发病 2 周内的炎症反应期和 2 周后的感染期^[3]。因此,在疾病早期及时识别可能进展为 SAP 的患者,并在早期给予及时的优化治疗就显得至关重要。如今,许多评分系统用来对 AP 患者病情严重程度进行分层以及预后评估^[4],临床中应用较广泛的评分系统有急性胰腺炎严重程度床边指数 (bedside index for severity in acute pancreatitis, BISAP)、Ranson 评分、序贯性器官功能衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA) 及急性生理与慢性健康评分 (APACHE II)。

本研究旨在探讨,中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、红细胞分布宽度 (red blood cell distribution width, RDW) 与 BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分对 AP 患者病情严重程度及 28 d 病死率的预测价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性纳入 2016 年 1 月—2019 年 9 月期间在如皋市人民医院住院治疗的 AP 患者 151 例,其中 MAP 85 例,MSAP 44 例,SAP 22 例,患者的诊断标准依据 2012 年《亚特兰大分类标准(修订版)》。排除标准:① AP 患者入院前接受过治疗;② 患有肿瘤;③ 处于妊娠期;④ 慢性胰腺炎急性发作;⑤ 患有尿毒症或血液系统疾病;⑥ 患有免疫系统疾病或服

用免疫抑制剂或类固醇激素;⑦ 年龄 < 18 周岁。

1.2 研究方法

收集 AP 患者入院时中性粒细胞计数、淋巴细胞计数、RDW、BUN,计算 NLR; APACHE II 评分、BISAP 评分及 SOFA 评分入院时进行评估, Ranson 评分入院 48 h 后进行评估;对 AP 患者自入院开始随访 28 d,计算 28 d 病死率,将患者分为生存组与死亡组;对患者基础资料、实验室指标及不同评分系统的差异进行分析,通过 ROC 曲线分别计算各指标预测 SAP 及 AP 患者 28 d 病死率的临界值、AUC 等。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0、MedCalc 19.1 进行分析,分析变量通过 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较,计量资料采用 Mann-Whitney U 检验,计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 检验;多组间比较,计量资料采用 Kruskal-Wallis H 检验,计数资料采用 χ^2 检验。通过 ROC 曲线分别计算各指标预测 SAP 及 AP 患者 28 d 病死率的临界值、AUC、敏感度、特异度、阳性预测值 (positive predictive value, PPV) 及阴性预测值 (negative predictive value, NPV), AUC 间比较采用 Z 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MAP、MSAP 及 SAP 组间基础资料、实验室指标及不同评分系统的比较

MAP、MSAP、SAP3 组间的 NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分比较,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$); 3 组间年龄、性别比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 生存组与死亡组间基础资料、实验室指标及不同评分系统的比较

死亡组 NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分均显著高

于生存组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);两组间性别、年龄的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 MAP、MSAP、SAP 组间基础资料、实验室指标及不同评分系统的比较

变量	MAP 组	MSAP 组	SAP 组	χ^2/Z	P
男性/女性	48/37	24/20	13/9	0.126	0.939
年龄(岁)	53.40±8.09	55.68±7.76	56.14±5.52	5.220	0.074
NLR	6.41±3.37	10.37±5.41	12.35±5.33	29.094	<0.01
BUN(mmol·L ⁻¹)	5.42±1.56	6.13±2.06	7.83±2.28	18.963	<0.01
RDW(%)	12.80±0.41	13.01±0.53	13.68±0.32	42.556	<0.01
BISAP 评分	1.14±0.78	1.86±0.69	3.00±0.51	63.480	<0.01
Ranson 评分	1.62±1.07	2.52±0.95	3.41±0.91	42.945	<0.01
SOFA 评分	2.26±1.11	4.16±0.78	4.73±1.08	78.365	<0.01
APACHE II 评分	3.81±2.24	4.77±2.17	7.68±3.31	35.330	<0.01

表 2 生存组与死亡组间基础资料、实验室指标及不同评分系统的比较

变量	生存组	死亡组	χ^2/Z	P
男性/女性	79/64	6/2	1.202	0.467 ^{a)}
年龄(岁)	54.34±7.90	56.75±2.43	-1.702	0.089
NLR	8.22±4.86	12.25±5.09	-2.469	0.014
BUN(mmol·L ⁻¹)	5.81±1.86	8.86±2.27	-3.268	0.001
RDW(%)	12.94±0.50	13.84±0.09	-4.285	<0.01
BISAP 评分	1.56±0.97	2.63±0.35	-3.150	0.002
Ranson 评分	2.09±1.20	3.13±0.83	-2.469	0.014
SOFA 评分	3.04±1.38	5.50±0.76	-4.302	<0.01
APACHE II 评分	4.54±2.74	6.75±1.49	-3.033	0.002

注:^{a)}因 $T < 5$,采用 Fisher 检验。

2.3 实验室指标、不同评分系统预测 SAP 及 28 d 病死率的结果比较

NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分,预测 SAP 的 AUC 分别为 0.761、0.768、0.914、0.928、0.830、0.830、0.837,临界值分别为 8.9、5.9、13.5、1.5、2、2.6。见图 1,表 3。

NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分,预测 28 d 病死率的 AUC 分别为 0.760、0.843、0.949、0.817、0.751、0.934、0.814,临界值分别为 9.5、6.5、13.7、2.5、2、4、7。见图 2,表 4。

2.4 相关实验室指标、不同评分系统的 AUC 比较

预测 SAP 的 RDW 分别与 NLR、BUN 的 AUC 比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);预测 AP 患者 28 d 病死率的 RDW 分别与 NLR、BUN 的 AUC 比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。实验室指标中, RDW 对 SAP、AP 患者 28 d 病死率的预测价值更好。

预测 SAP 的 BISAP 评分相比 Ranson 评分、SOFA 评分、APACHE II 评分,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);预测 AP 患者 28 d 病死率的 SO-

FA 评分相比 BISAP 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。评分系统中,BISAP 评分对 SAP 的预测价值更好,SOFA 评分对 AP 患者 28 d 病死率的预测价值更好。

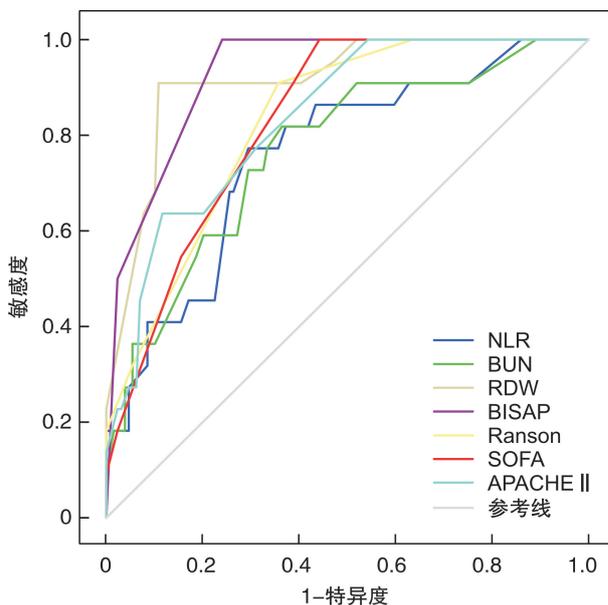


图 1 预测 SAP 的实验室指标、不同评分系统 ROC 曲线

表 3 实验室指标、不同评分系统预测 SAP 的结果比较

变量	AUC(95%CI)	P	临界值	敏感度/%	特异度/%	PPV/%	NPV/%
NLR	0.761(0.684~0.826)	<0.01	8.9	77.27	70.54	30.9	94.8
BUN	0.768(0.693~0.833)	<0.01	5.9	81.82	63.57	27.7	95.3
RDW	0.914(0.857~0.953)	<0.01	13.5	90.91	89.15	58.8	98.3
BISAP 评分	0.928(0.875~0.964)	<0.01	1.5	100.00	75.97	41.5	100.0
Ranson 评分	0.830(0.760~0.886)	<0.01	2.0	90.91	64.34	30.3	97.6
SOFA 评分	0.830(0.761~0.886)	<0.01	2.0	100.00	55.81	27.8	100.0
APACHE II 评分	0.837(0.768~0.892)	<0.01	6.0	63.64	88.37	48.3	93.4

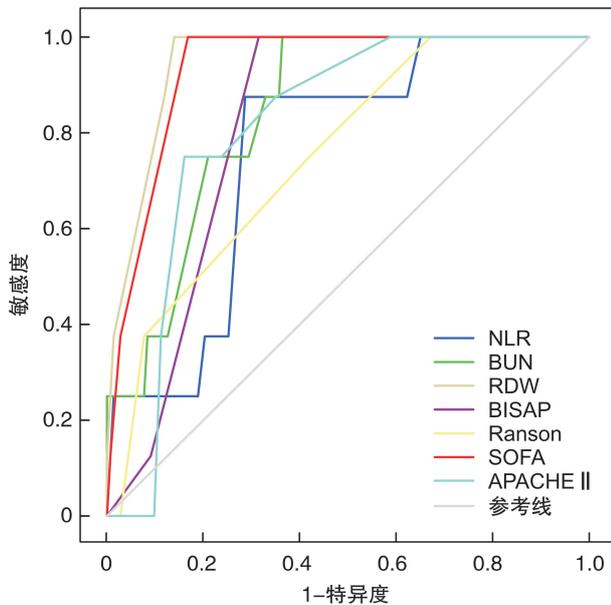


图 2 预测 AP 患者 28 d 病死率的实验室指标、不同评分系统 ROC 曲线

3 讨论

AP 是一种固有免疫与适应性免疫共同参与的全身炎症反应性疾病。NLR 作为一种易于获取的参数,最早用于评估危重患者全身炎症和应激状态^[5],高 NLR 表示 AP 患者外周血中较高的中性粒细胞或较低的淋巴细胞水平。中性粒细胞引起 IL-6、IL-8、TNF- α 等细胞炎症因子发生级联反应,

释放大量氧自由基和蛋白水解酶,从而导致组织受损^[6]。已经观察到这些炎症介质对 AP 期间的全身炎症反应具有重要作用^[7]。近年来,一些研究探讨了 NLR 与 AP 之间的部分关系^[8-9]。Cho 等^[8]指出 NLR 是胆源性 AP 患者显著的独立危险因素,相比传统预测指标 CRP,它能更好地预测 AP 患者持续性器官功能衰竭的发生。Wang 等^[9]发现 NLR 可以预测高甘油三脂性胰腺炎患者病情的严重程度。研究还表明,AP 患者外周血淋巴细胞计数与病情严重程度相关,淋巴细胞计数的减低预示着 AP 患者病情严重程度的增加^[10]。BUN 反映了 AP 患者血管内容量减少造成的早期肾前性氮质血症的疾病状态^[11],一项入组 215 例 AP 患者的研究发现,入院 48 h 内 BUN 的最高水平是感染性胰腺坏死的独立危险因素,它联合 CRP、HCT 等可以较好的预测坏死性胰腺炎的发生^[12]。RDW 作为全血细胞计数的一部分,主要反应红细胞体积异质性,最早用来区分地中海贫血与缺铁性贫血^[13]。近年来,发现它与许多疾病的患病风险、活动程度以及预后相关,一项研究表明,RDW 是预测 AP 患者病死率的有效指标^[14]。还有研究提示 RDW 与 AP 严重程度呈正相关,可作为 AP 严重程度和病死率的预测因素^[15]。炎症反应可以改变红细胞半衰期,促进红细胞生成,导致铁代谢紊乱,增加溶血,最终导致造血功能受损,红细胞体积异质性增大,故 RDW 可以作为非特异性炎症指标反应炎症状态^[16]。

表 4 实验室指标、不同评分系统预测 AP 患者 28 d 病死率的结果比较

变量	AUC(95%CI)	P	临界值	敏感度/%	特异度/%	PPV/%	NPV/%
NLR	0.760(0.683~0.825)	<0.01	9.5	87.50	71.33	14.6	99.0
BUN	0.843(0.775~0.897)	<0.01	6.5	87.50	65.73	12.5	98.9
RDW	0.949(0.901~0.978)	<0.01	13.7	87.50	88.11	29.2	99.2
BISAP	0.817(0.746~0.875)	<0.01	2.5	12.50	90.91	7.1	94.9
Ranson 评分	0.751(0.674~0.818)	<0.01	2.0	75.00	58.04	9.1	97.6
SOFA 评分	0.934(0.882~0.968)	<0.01	4.0	100.00	83.22	25.0	100.0
APACHE I 评分	0.814(0.743~0.873)	<0.01	7.0	37.50	88.81	15.8	96.2

BISAP 评分,Ranson 标准、SOFA 评分和 APACHE II 评分广泛用于 AP 患者的评估上。研究发现 BISAP 评分在 AP 患者病情严重程度及预

后上同 APACHE II 一样都展示出了良好的预测价值,并且优于 Ranson 评分^[4,17]。我们研究发现 BISAP 评分在 SAP 的预测上优于 Ranson 评分、

SOFA 评分、APACHE II 评分,组间 AUC 比较差异均有统计学意义。APACHE II 评分基于 12 项生理指标,评价时相对复杂^[18]。与 APACHE II 评分相比,SOFA 评分相对简单且易于操作,有研究表明高的 SOFA 评分预示着较高的病死率或可能进展成重症,SOFA 评分在疾病预后的评估方面要优于 Ranson 评分和 APACHE II 评分^[19]。我们研究发现 SOFA 评分对 AP 患者 28 d 病死率的预测要优于 BISAP 评分、Ranson 评分、APACHE II 评分,组间进行 AUC 比较差异均有统计学意义。

通过本次研究,我们发现 NLR、BUN、RDW、BISAP 评分、Ranson 评分、SOFA 评分及 APACHE II 评分对 SAP 及 AP 患者 28 d 病死率均有预测价值。实验室指标中,RDW 对 AP 患者病情严重程度及预后的预测价值更好;评分系统中,BISAP 评分对 AP 患者病情严重程度预测价值更好,SOFA 评分对 AP 患者预后的预测价值更好。

参考文献

- [1] Petrov MS, Yadav D. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(3): 175-184.
- [2] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,中华胰腺病杂志编辑委员会,中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019 年,沈阳)[J]. *中华消化杂志*, 2019, 39(11): 721-730.
- [3] Tee YS, Fang HY, Kuo IM, et al. Serial evaluation of the SOFA score is reliable for predicting mortality in acute severe pancreatitis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(7): 9654.
- [4] Vasudevan S, Goswami P, Sonika U, et al. Comparison of Various Scoring Systems and Biochemical Markers in Predicting the Outcome in Acute Pancreatitis[J]. *Pancreas*, 2018, 47(1): 65-71.
- [5] Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2001, 102(1): 5-14.
- [6] Felderbauer P, Müller C, Bulut K, et al. Pathophysiology and treatment of acute pancreatitis: new therapeutic targets--a ray of hope? [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2005, 97(6): 342-350.
- [7] Wittel UA, Rau B, Gansauge F, et al. Influence of PMN leukocyte-mediated pancreatic damage on the systemic immune response in severe acute pancreatitis in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 2004, 49(7-8): 1348-1357.
- [8] Cho SK, Jung S, Lee KJ, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio can predict the severity of gallstone pancreatitis[J]. *BMC Gastroenterol*, 2018, 18(1): 18.
- [9] Wang Y, Fuentes HE, Attar BM, et al. Evaluation of the prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis[J]. *Pancreatol*, 2017, 17(6): 893-897.
- [10] Pavlov P, Uchikov P, Murdzheva M, et al. Main lymphocyte populations and their subpopulations in patients with acute pancreatitis studied in the course of disease[J]. *Khirurgiia (Sofia)*, 2001, 57(5-6): 4-11.
- [11] Hong W, Lin S, Zippi M, et al. High-Density Lipoprotein Cholesterol, Blood Urea Nitrogen, and Serum Creatinine Can Predict Severe Acute Pancreatitis[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1648385.
- [12] Chen HZ, Ji L, Li L, et al. Early prediction of infected pancreatic necrosis secondary to necrotizing pancreatitis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(30): e7487.
- [13] Zhang T, Liu H, Wang D, et al. Predicting the Severity of Acute Pancreatitis With Red Cell Distribution Width at Early Admission Stage[J]. *Shock*, 2018, 49(5): 551-555.
- [14] Goyal H, Awad H, Hu ZD. Prognostic value of admission red blood cell distribution width in acute pancreatitis: a systematic review[J]. *Ann Transl Med*, 2017, 5(17): 342.
- [15] Hu ZD, Wei TT, Zhong RQ. Red blood cell distribution: an index without additional cost in estimating the prognosis of acute pancreatitis [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016, 54(12): e389-e390.
- [16] Orfanu AE, Popescu C, Leuştean A, et al. The Importance of Haemogram Parameters in the Diagnosis and Prognosis of Septic Patients[J]. *J Crit Care Med (Targu Mures)*, 2017, 3(3): 105-110.
- [17] Chandra S, Murali A, Bansal R, et al. The Bedside Index for Severity in Acute Pancreatitis: a systematic review of prospective studies to determine predictive performance[J]. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 2017, 7(4): 208-213.
- [18] Zhang W, Hu J, Yao B, et al. Evaluation of Early Prognostic Factors of Mortality in Patients with Acute Pancreatitis: A Retrospective Study[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2017, 2017: 8363561.
- [19] Adam F, Bor C, Uyar M, et al. Severe acute pancreatitis admitted to intensive care unit; SOFA is superior to Ranson's criteria and APACHE II in determining prognosis[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2013, 24(5): 430-435.

(收稿日期: 2020-07-16)