

Kolorektal Müsinöz Adenokarsinomlarda Taşlı Yüzük Hücre Komponentinin Prognosa Etkisi

The Effect of Signet Ring Cell Component on Prognosis in Colorectal Mucinous Adenocarcinomas

Fatmagül KUŞKU ÇABUK , Damlanur SAKIZ , Elif Eda ÖZER , Zehra Sibel KAHRAMAN ,
Hakan SEYİT 

¹ Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İSTANBUL

² Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Kliniği, İSTANBUL

³ Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Amaç: Müsinöz adenokarsinomların (MAK) klasik adenokarsinomdan daha kötü prognozlu olduğu ancak taşlı yüzük adenokarsinomundan da daha iyi prognozlu olduğu saptanmıştır. Ancak MAK'ta izlenebilen taşlı yüzük hücre (TYH) komponentinin prognoza olan etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada müsinöz tümördeki TYH ve lenf nodu metastazındaki TYH komponentinin prognoza etkisi olup olmadığını araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Hastanemizde 2011-2013 yılları arasında tanı alan ve takipleri olan MAK tanılı 40 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalara ait preparatlar yeniden değerlendirilerek TYH oranına ve metastatik lenf nodlarında TYH varlığına bakıldı. ROC analizinde tümörün %53,8 sensitivite ve %50 spesifitesi ile TYH oranının sınır değeri %7 ve altı ile %7 üstü şeklinde saptandı. Bu değer sonucuna göre TYH varlığının prognostik parametreler ile ilişkisine, hastalıksız yaşam (DFS) ve genel sağkalım (OS) üzerine etkisine bakıldı.

Bulgular: Hastaların ortalama DFS süresi 26 ay, OS süresi 27 (min:1, max: 82 Sdt: 26) aydı. Tümörde TYH oranına göre 21 (%52,5) hasta \leq %7, 19 (%47,5) hasta $>$ %7 saptandı. Lenf nodu metastazı olan hastaların 15'inde (%37,5) TYH'si mevcuttu. Tümördeki TYH ile OS ($p=0,120$) ve DFS ($p=0,269$) arasında anlamlı sonuç saptanmadı. Ancak lenf nodunda TYH varlığında OS ($p=0,006$), DFS ($p=0,001$) değerleri anlamlı idi. Evre ile tümördeki TYH oranı, lenf nodundaki TYH varlığı ile perinöral invazyon, lenfovasküler invazyon ve hastalarda ölüm arasında anlamlı sonuçlar elde edildi.

Sonuç: Kolorektal MAK'ta TYH varlığı ileri tümör evresi ile ilişkili saptanmış olup prognoz açısından OS ve DFS arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Lenf nodunda TYH olması ise düşük OS ve DFS ile ilişkili saptanmış olup, kötü prognoz ile ilişkilidir.

Anahtar Sözcükler: Kolorektal müsinöz adenokarsinom, Taşlı yüzük hücre, Hastalıksız sağ kalım, Genel sağkalım, Prognostik parametreler

ABSTRACT

Aim: Mucinous adenocarcinoma (MAC) has poor prognosis than classic adenocarcinoma but has better prognosis than signet ring cell (SRC) carcinoma. However, the effect of signet ring cell component in MAC on prognosis is still unclear. In this study we aim to evaluate the effect of SRC component in mucinous tumour and in lymph node metastasis on prognosis.

Materials and Methods: 40 patients with MAC diagnosis and follow up between 2011 to 2013 were included in study. The slides of the patients are re-evaluated and percent of SRC in mucinous tumour and presence of SRC in lymph node metastasis assessed. In Roc analysis, at T4 stage, the cut of value SRC percentage was calculated as 7% with 53.8% sensitivity and 50% specificity. Based on this results, the effect of SRC presence on prognostic values, disease free survival (DFS) and overall survival (OS) was evaluated.

Results: The mean DFS was 26 and, OS was 27 ± 26 (min:1-max82) months. 21(52.5%) patients had \leq 7% and 19 (47.5%) patients had $>$ 7% SRC ratio. There was no relation between SRC ratio and OS ($p=0.120$) and DFS ($p=0.269$). However, SRC presence in the lymph node had significantly related to OS ($p=0.006$) and DFS ($p=0.001$). There was a significant relation between SRC ratio and stage in tumour. And SRC presence in lymph node was also significantly related with perineural invasion, lymphovascular invasion and mortality rates of patients.

Conclusion: SRC ratio was related to stage of colorectal MAC, but in terms of prognosis, it was not related to OS and DFS. However, presence of SRC in lymph node was related to low OS and DFS, and associated with poor prognosis.

Key Words: Colorectal mucinous adenocarcinoma, Signet ring cell, Disease-free survival, Overall survival, Prognostic factors

GİRİŞ

Kolon kanserleri tüm dünyada görülen en sık üçüncü kanserdir (1). Kolonda lokalize karsinomların %90'dan fazlası adenokarsinomdur (1). Taşlı yüzük hücre (TYH)'li karsinom tüm kolorektal karsinomların %0.1-2.4'ünü oluşturur (2,3). Müsinöz adenokarsinomlar ise yaklaşık %1.6-25.4'ünü oluşturur (3). Tümörde ekstrasellüler müsinin \geq %50 olması halinde müsinöz adenokarsinom (MAK), taşlı yüzük hücrelerin (TYH) \geq 50 olması hâlinde TYH'li karsinom tanısı alır (1). Primer kolorektal taşlı yüzük hücreli kanser ilk olarak Laufman (4) tarafından 1951 yılında ve müsinöz karsinom ilk olarak Parham (5) tarafından 1923 yılında tanımlanmıştır. Taşlı yüzük hücreli ve müsinöz adenokarsinomun Dünya Sağlık Örgütü tarafından klasik adenokarsinomlardan ayrı olarak tanımlanması 1979 yılında olmuştur (1). Kolorektal TYH'li karsinomlar sıradan adenokarsinomlar ile karşılaştırıldığında TYH'li karsinomlar daha genç yaşta görülmekte, yüksek tümör derecesi, kötü gidiş ile karakterizedir (6,7).

Cerrahi tedavi ile kür şansı olsa bile kolon karsinomlu hastalarda prognozu etkileyen faktörler tam olarak anlaşılammıştır (1). Yapılan çalışmalarda MAK'ların klasik adenokarsinomdan daha kötü prognozlu olduğu ancak TYH'li karsinomdan da daha iyi prognozlu olduğu saptanmıştır (8, 9). Ancak MAK'da izlenebilen TYH komponentinin prognoza olan etkisi tam olarak bilinmemektedir (8).

Bu çalışmada müsinöz tümördeki TYH oranının ve lenf nodu metastazındaki TYH varlığının prognoza etkisi olup olmadığı araştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

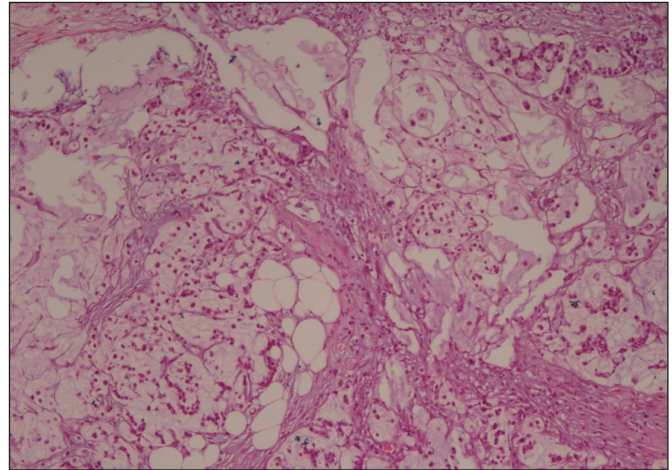
Hastanemizde 2011-2013 yılları arasında kolorektal MAK tanısı alan ve takipleri olan 40 hasta çalışmaya dahil edildi. Operasyon öncesi hastaların hiçbiri neoadjuvan kemoterapi veya radyoterapi almamıştı. Hastalara ait preparatlar yeniden değerlendirilerek her bir olguda tümördeki TYH'lerin tüm tümöre oranına bakıldı ve her bir tümördeki değer yüzde olarak saptandı (Şekil 1). Metastatik lenf nodlarında TYH varlığı incelendi (Şekil 2). Tümördeki TYH yüzdesi T evresine göre ROC eğrisinde %81 sentivite ve %66 spesifite için sınır değeri %7 ve altı ile %7 üstü şeklinde saptandı. Bu değer sonucuna göre tümördeki TYH oranının prognostik parametrelerle ilişkisine, hastalıksız yaşam (DFS) ve genel sağkalım (OS) üzerine etkisine Kaplan- Meire sağkalım eğrisi ile bakıldı. Lenf nodunda TYH varlığının prognostik parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakıldı. İstatistiksel olarak SPSS (SPSS version 17.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. P değeri için 0,05'ten küçük olan değerler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

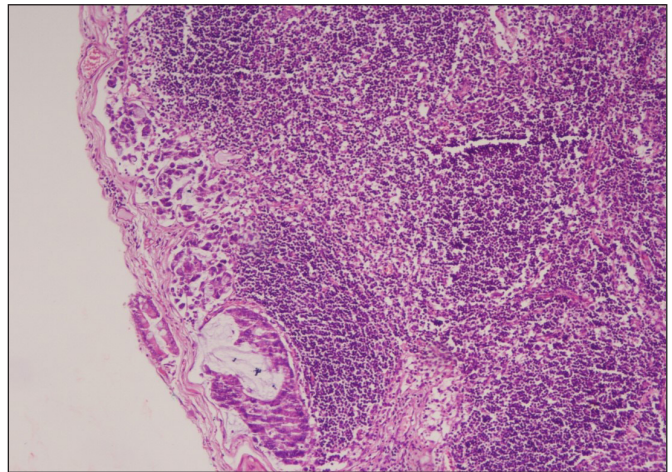
Hastaların 22'si erkek (%55), 18'i kadındı (%45). Ortalama yaş 61 (min: 39, max: 85 Sdt: 12) idi. Tümör yerleşimi en

sık rektosigmoddi (%52). Tümör evresinde en fazla T3; 25 (%62,5) olarak saptandı. Perinöral invazyon (PNI) hastaların 17'sinde (%42,5), lenfovasküler invazyon (LVI) 21'inde (%52,5), lenf nodu metastazı 28'inde (%70) vardı. Lenf nodunda TYH karsinom komponenti olan hastalarda tümördeki TYH komponentin oranı ortalama %21,61 (Sdt: 17.23) idi. Hastaların 23'ü (%57,3) ölmüştü, 8'inde (%20) nüks gelişmişti. Diğer klinikopatolojik özellikler Tablo 1'de özetlenmiştir. Tümörde TYH li komponentin T evresine göre ROC eğrisinde sentivitesi %53,8 ve spesifitesi %50 olduğunda sınır değeri %7 anlamlıydı. İstatistiksel analizler bölünmüş TYH değerine göre yapıldığında 21 (%52,5) hasta \leq %7, 19 (%47,5) hasta $>$ %7 saptandı. Lenf nodu metastazı olan hastaların 15'inde (%37,5) TYH'si mevcuttu.

Hastaların takip süresi DFS ortalaması 26 ay, OS 27 (min:1, max: 82 Sdt: 26) aydı. Tümörlerdeki TYH li komponent ortalama %13,40 (min: %0, max: %45, Sdt: 13,23) olarak



Şekil 1: Tümörde – taşlı yüzük hücre oranı tümörün yaklaşık %45'i (HEx200).



Şekil 2: Lenf nodu metastazında taşlı yüzük hücrelerinin gösterilmesi (HEx100).

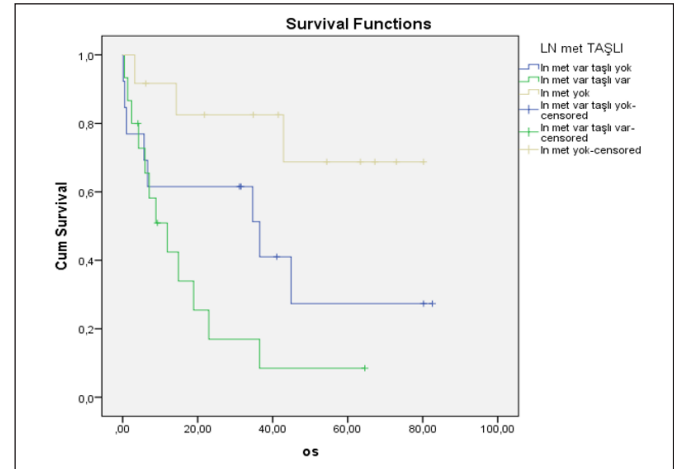
Tablo I: Klinikopatolojik özellikler

	Sayı, n (%)
Cinsiyet	
Kadın	18 (45)
Erkek	22 (55)
Yaş	
≤50yaş	8 (20)
>50 yaş	32 (80)
Lokalizasyon	
Çekum	7 (17,5)
Sağ kolon	9 (22,5)
Transvers kolon	1 (2,5)
İnen kolon	2 (5)
Rektosigmoid	21 (52,5)
Derece	
Düşük derece	5 (12,5)
Orta derece	23 (57,5)
Yüksek derece	12 (30)
Perinöral invazyon	
Var	17 (42,5)
Yok	23 (57,5)
Lenfovasküler invazyon	
Var	21 (52,5)
Yok	19 (47,5)
T evre	
T2	4 (10)
T3	25 (62,5)
T4a	7 (17,5)
T4b	4 (10)
Evre	
Düşük evre (I-II)	12 (70)
Yüksek evre (III-IV)	28 (30)
Tümörde TYH oranı	
≤ %7	21 (52,5)
> %7	19 (47,5)
Lenf nodu metastazı var	28 (70)
- TYH komponenti Var	- 15 (37,5)
- TYH komponenti Yok	- 13 (32,5)
Lenf nodu metastazı yok	12 (30)
Nüks	
Var	8 (20)
Yok	32 (80)
Ölüm	
Var	23 (57,5)
Yok	17 (42,5)

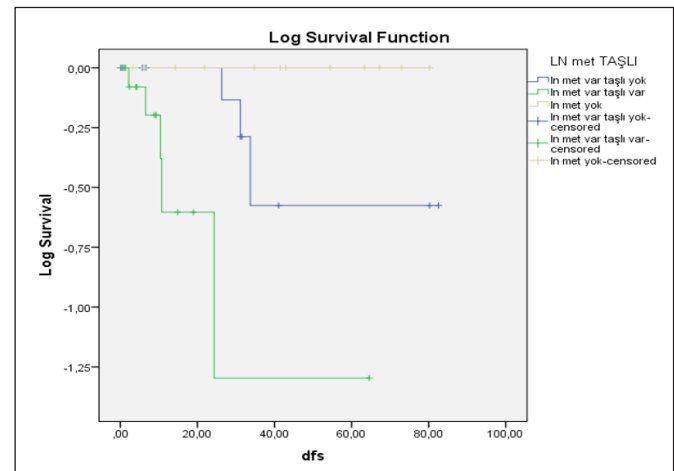
saptandı. Tümördeki TYH ile OS ($p=0,120$) ve DFS ($p=0,269$) arasında anlamlı sonuç saptanmadı. Ancak lenf nodunda TYH varlığında OS ($p=0,006$), DFS ($p=0,001$) değerleri anlamlı idi (Şekil 3 ve 4). Tümörde TYH li komponent ile derece arasında ($p= 0,068$) ve lenf nodu metastazı arasında ($p= 0,629$) anlamlı sonuçlar elde edilmedi. Diğer parametreler ile tümörde TYH varlığı karşılaştırıldığında evre ve yaş ile anlamlı, lenf nodundaki TYH varlığı ile de evre, perinöral (PNI), lenfovasküler (LVI) ve hastalardaki ölüm arasında anlamlı sonuçlar elde edildi (Tablo II).

TARTIŞMA

Kolorektal MAK'larda TYH varlığının prognoza etkisini araştıran az sayıda makale bulunmaktadır (8,10-12). Bu çalışmada TYH'li MAK'larda, tümörde TYH'lerin olmasının prognozu etkilemediği ancak lenf nodu metastazında TYH varlığının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterildi.



Şekil 3: Kaplan-Meier eğrisinde lenf nodu metastazında taşlı yüzük hücre komponentinin genel sağkalım üzerine etkisi.



Şekil 4: Kaplan-Meier eğrisinde lenf nodu metastazında taşlı yüzük hücre komponentinin hastalısız sağkalım üzerine etkisi.

Tablo II: Tümörde bölünmüş TYH oranının (≤ 7 ve >7) prognostik parametrelerle ve lenf nodundaki TYH varlığının prognostik parametrelerle ilişkisi

	Tümördeki TYH p değeri	Lenf nodundaki TYH p değeri
Yaş	0,027**	0,369
Evre T	0,036**	0,000**
PNI	0,962	0,009**
LVI	0,516	0,001**
Nüks	0,874	0,172
Ölüm	0,491	0,015**
Tümör lokalizasyonu	0,554	0,448

Kolorektal MAK, klasik adenokarsinoma göre kötü prognozudur (10,13). Tan ve ark.nın yaptığı çalışmada 2454 kolorektal karsinomlu hasta çalışmaya dahil edilmiş ve hastalarda TYH komponentinin parsiyel bile olmasının hastalarda kötü gidiş gösterdiği belirtilmiştir (10). Sung ve ark.nın yaptıkları çalışma MAK'da TYH varlığının, olmayanlara göre daha kötü prognozlu olduğunu ortaya koyulmuştur (11). TYH'lerin karsinomlarda kötü gidiş için bağımsız bir risk olduğu düşünülmüştür (8). Daha önceki çalışmalarda da TYH oranı %50'den düşük olduğu halde bu hastaların TYH'li karsinomdaki gibi kötü gidişli olduğu bildirilmiştir (14). Kong ve arkadaşlarının çalışmasında TYH'li MAK tanısı alan hastalarda TYH oranı için sınır değeri %35 olarak saptanmıştır ve OS ile DFS de anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (8). Bizim çalışmamızda tümör T evresine göre spesifite ve sensitivitesi bakımından en anlamlı sınır değeri %7 olarak saptandı. OS ve DFS ile arasında anlamlı sonuçlar elde edilmedi. Saptanan sınır değeri literatürdeki bu çalışmaya göre oldukça düşüktü. Bunun da nedeni, alınan hasta grupları arasında fark olması olarak düşünüldü. Kong ve ark.nın çalışmasında, çalışmaya aldıkları hastalarda TYH komponenti olan MAK'lar dahil edilmiş olup bizim çalışmamızda ise tüm MAK'lar dahil edilmişti. Ayrıca Kong ve ark.nın çalışmasında TYH oranının %50'nin üzerinde olduğu hastalar da bulunmaktaydı. TYH oranı %50 üzerinde ise bunları TYH'li karsinom kategorisine alınması gerektiği belirtilmektedir (1,12). MAK'larda TYH komponenti ile ilgili literatürdeki az sayıda çalışmalardan biri de oldukça yeni yayınlanmış olan Song ve ark.nın yaptıkları çalışmadır (12). MAK'larda müsinöz gölcükleri içinde tümör hücrelerinin oluşturduğu gruplar incelenmiştir. Bunlardan şerit, küme, TYH ve mikst tiplerden baskın patern belirlenerek yaşam üzerine etkisi araştırılmıştır. TYH'si baskın olan hastalarda OS nin daha kısa olduğunu saptamışlardır (12). MAK da TYH'li komponent varsa bunun patoloji raporlarında %10-50 şeklinde belirtilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada baskın patern belirlenmiş ancak yüzde olarak ifade edilmemiştir. Bu

çalışmada tümördeki paterne göre derecelendirme yapılmış iyi, orta, kötü differansiye adenokarsinom, TYH li karsinom ve tamamı müsinöz oluşan karsinom olarak gruplara ayrılmıştır. Histolojik derece ile OS ve nüksüz yaşam arasında anlamlı sonuç saptamamışlardır (12). Bizim çalışmamızda da derece ile TYH arasında anlamlı sonuçlar elde edilmedi.

Bu çalışmada tümörde TYH varlığı, yaşam analizi dışında diğer klinikopatolojik veriler ile karşılaştırıldığında sadece yaş ve evre arasında anlamlı ilişki elde edildi. Yaş literatürde önceki çalışmalarda, kolorektal TYH'li karsinomun genç bireylerde (<40 yaş), TYH olmayan MAK'a göre daha fazla sıklıkta olduğunu göstermiştir (6,8,10,15-17). Genç bireylerde de MAK'ın daha kötü seyrettiği gösterilmiştir (17,18). Yaş ile ilgili sonuçlarımız literatür ile ters düşmekte olup, bu çalışmada hastaların çoğu 50 yaşın üstündeydi ve 50 yaş üstünde, TYH'li komponentinin fazla olması anlamlı idi. Literatürde Evre ile klasik adenokarsinom, MAK, TYH'li karsinom ve parsiyel TYH'li karsinom karşılaştırıldığında TYH'li komponent olanlarda evrenin daha ileri olduğu saptanmıştır (10,17). Bu çalışmada da literatüre benzer şekilde ileri evre hastalarda TYH'li komponent yüzdesi daha yüksekti. Literatürde tümörde baskın patern TYH'si olduğunda PNI, LVI ile arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde eden çalışmalar da bulunmaktadır (12). Ancak biz çalışmamızda tümördeki TYH oranı ile PNI ve LVI arasında anlamlı sonuçlar elde edemedik. Ayrıca tümördeki TYH oranı ile tümör lokalizasyonunu sağ ve sol kolon olarak ikiye ayırarak incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edemedik. Literatürde sol kolon lokalizasyonu ile MAK'daki TYH baskın paternin anlamlı olduğunu bildiren çalışma bulunmaktadır (12).

Lenf nodu metastazı kötü prognoz açısından bağımsız bir risk faktörüdür (8,11). Literatürde lenf nodu metastazında TYH komponentinin varlığının prognoza etkisi üzerinde durulmamıştır. Bu çalışmada lenf nodunda TYH varlığı kısa OS ve DFS ile anlamlı saptanmıştır. Lenf nodunda TYH varlığında hastalarda ölüm ve progresyonun daha kısa sürede geliştiği elde edilmiştir. Aynı zamanda tümörde LVI ve PNI'nun geliştiği, bu hastalarda ölüm oranının arttığı ve ileri evre ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak lenf nodunda TYH'li komponentin görülmesi durumunda, prognozun kötü olacağı saptanmış, bunun patoloji raporlarına eklenebileceği düşünülmüştür.

SONUÇ

Bu çalışmada kolorektal müsinöz karsinomlarda tümördeki TYH varlığının ileri tümör evresi ve ileri yaş ile ilişkisi saptanmış olup prognoz açısından OS ve DFS arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Lenf nodunda TYH varlığı ise düşük OS ve DFS ile ilişkili saptanmıştır. Aynı zamanda lenf nodunda TYH varlığı ile evre, PNI, LVI ve ölüm arasında anlamlı sonuçlar elde edilmiş olup bunun kötü prognostik belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Hamilton SR, Bosman FT, Boffeta P, Ilyas m, Morreau H. Carcinoma of the colon and rectum. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. WHO Classification of Tumours of the Digestive System. 4th ed. Lyon: IARC; 2010. 134-147
2. Verhulst J, Ferdinande L, Demetter P, Ceelen W. Mucinous subtype as prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review and metaanalysis. *J Clin Pathol.* 2012;65(5):381-388.
3. Song BR, Xiao CC, Wu ZK. Predictors of Lymph Node Metastasis and Prognosis in pT1 Colorectal Cancer Patients with Signet-Ring Cell and Mucinous Adenocarcinomas. *Cell Physiol Biochem.* 2017;41(5):1753-1765.
4. Laufman H, Saphir O. Primary linitis plastica type of carcinoma of the colon. *AMA Arch Surg.* 1951 Jan;62(1):79-91.
5. Parham D. Colloid Carcinoma. *Ann Surg.* 1923 Jan;77(1):90-105.
6. Belli S, Aytac HO, Karagulle E, Yabanoglu H, Kayaselcuk F, Yildirim S. Outcomes of surgical treatment of primary signet ring cell carcinoma of the colon and rectum: 22 cases reviewed with literature. *Int Surg.* 2014;99(6):691-698.
7. Almagro UA. Primary signet-ring carcinoma of the colon. *Cancer.* 1983;52(8):1453-1457.
8. Kong X, Zhang X, Huang Y, Tang L, Peng Q, Li J. Characteristics and prognostic factors of colorectal mucinous adenocarcinoma with signet ring cells. *Cancer Manag Res.* 2017 Nov 2;9:573-580.
9. Pozos-Ochoa LI, Lino-Silva LS, León-Takahashi AM, Salcedo-Hernández RA. Prognosis of Signet Ring Cell Carcinoma of the Colon and Rectum and their Distinction of Mucinous Adenocarcinoma with Signet Ring Cells. A Comparative Study. *Pathol Oncol Res.* 2018 Jul;24(3):609-616.
10. Tan Y, Fu J, Li X, et al. A minor (<50%) signet-ring cell component associated with poor prognosis in colorectal cancer patients: a 26-year retrospective study in China. *PLoS One.* 2015;10(3):e0121944.
11. Sung CO, Seo JW, Kim KM, Do IG, Kim SW, Park CK. Clinical significance of signet-ring cells in colorectal mucinous adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2008;21(12):1533-1541. doi: 10.1038/modpathol.2008.170.
12. Song IH, Hong SM, Yu E, Yoon YS, Park IJ, Lim SB, Kim JC, Yu CS, Kim J. Signet ring cell component predicts aggressive behaviour in colorectal mucinous adenocarcinoma. *Pathology.* 2019 Apr 24. pii: S0031-3025(18)30504-X.
13. Secco GB, Fardelli R, Campora E, et al. Primary mucinous adenocarcinomas and signet-ring cell carcinomas of colon and rectum. *Oncology.* 1994;51(1):30-34.
14. Ogino S, Brahmandam M, Cantor M, et al. Distinct molecular features of colorectal carcinoma with signet ring cell component and colorectal carcinoma with mucinous component. *Mod Pathol.* 2006; 19(1): 59-68.
15. Tawadros PS, Paquette IM, Hanly AM, Mellgren AF, Rothenberger DA, Madoff RD. Adenocarcinoma of the rectum in patients under age 40 is increasing: impact of signet-ring cell histology. *Dis Colon Rectum.* 2015;58(5):474-478.
16. Inamura K, Yamauchi M, Nishihara R, et al. Prognostic significance and molecular features of signet-ring cell and mucinous components in colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2015;22(4):1226-1235.
17. Soliman BG, Karagkounis G, Church JM, Plesec T, Kalady MF. Mucinous Histology Signifies Poor Oncologic Outcome in Young Patients With Colorectal Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2018 May; 61(5): 547-553.
18. Kanda M, Oba K, Aoyama T, Kashiwabara K, Mayanagi S, Maeda H, Honda M, Hamada C, Sadahiro S, Sakamoto J, Saji S, Yoshikawa T; Japanese Foundation for Multidisciplinary Treatment of Cancer. Clinical Signatures of Mucinous and Poorly Differentiated Subtypes of Colorectal Adenocarcinomas by a Propensity Score Analysis of an Independent Patient Database from Three Phase III Trials. *Dis Colon Rectum.* 2018 Apr;61(4):461-471.