

“益肾固冲调神法” 针灸联合八髎穴隔姜灸对 肾虚肝郁型卵巢早衰患者性激素水平、 子宫动脉血流的影响

刘玲, 彭远容, 郑三娟, 熊婷婷
(成都市双流区妇幼保健院, 四川 成都 610200)

摘要: 目的: 探讨分析“益肾固冲调神法”针灸联合八髎穴隔姜灸治疗肾虚肝郁型卵巢早衰患者性激素水平、子宫动脉血流的影响。方法: 选择我院收治的卵巢早衰患者 71 例, 随机分为观察组 36 例、对照组 35 例。对照组给予戊酸雌二醇/雌二醇环丙孕酮片治疗, 观察组在对照组基础上给予“益肾固冲调神法”针灸与八髎穴隔姜灸治疗, 两组均治疗 3 个月。比较两组临床疗效、性激素水平及子宫动脉血流变化。结果: 观察组治疗总有效率高于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后两组患者血清 FSH、LH、阻力指数 RI 均较治疗前显著降低 ($P < 0.05$), 血清 E2 以及子宫动脉血流 PSV、EDV 水平较治疗前显著升高 ($P < 0.05$), 且治疗后两组比较具有统计学差异 ($P < 0.05$)。治疗后两组患者卵巢体积及 AFC 个数较治疗前显著升高 ($P < 0.05$), 且治疗后两组比较具有统计学差异 ($P < 0.05$)。结论: “益肾固冲调神法”针灸联合八髎穴隔姜灸治疗肾虚肝郁型卵巢早衰临床疗效显著, 可有效改善患者性激素水平、子宫血流动力学, 并增加患者卵巢储备功能, 值得临床推广。

关键词: 针灸; 八髎穴隔姜灸; 肾虚肝郁; 卵巢早衰; 性激素; 子宫动脉血流

中图分类号: R 246.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3649 (2024) 06-0197-04

Effect of “YishenGuchong Tiaoshen method” acupuncture combined with Baliao Point ginger moxibustion on sex hormone level and uterine artery blood flow in patients with kidney deficiency and liver depression type premature ovarian failure/LIU Ling, PENG Yuanrong, ZHENG Sanjuan, et al// (Chengdu Shuangliu District Maternal and Child Health Care Hospital, Chengdu Sichuan 610200, China)

Abstract: Objective: To explore and analyze the effects of “YishenGuchong Tiaoshen method” acupuncture combined with Baliao point ginger moxibustion on the level of sex hormone and uterine artery blood flow in patients with kidney deficiency and liver depression type premature ovarian failure. Methods: 71 patients with premature ovarian failure in our hospital were randomly divided into observation group (36 cases) and control group (35 cases). The control group was treated with estradiol valerate/estradiol cyproterone tablets, and the observation group was treated with “Yishenguchong Tiaoshen method” acupuncture and moxibustion with ginger at Baliao point on the basis of the control group. Both groups were treated for 3 months. The clinical effect, sex hormone level and uterine artery blood flow were compared between the two groups. Results: After treatment, serum FSH, LH and resistance index RI in 2 groups were significantly decreased compared with before treatment ($P < 0.05$), serum E2 and uterine artery blood flow PSV and EDV levels were significantly increased compared with before treatment ($P < 0.05$), and there were statistical differences between 2 groups after treatment ($P < 0.05$). After treatment, the ovarian volume and AFC number of the two groups were significantly increased compared with that before treatment ($P < 0.05$), and there were statistical differences between the two groups after treatment ($P < 0.05$). Conclusion: “YishenGuchong Tiaoshen method” acupuncture combined with Baliao point ginger moxibustion in the treatment of kidney deficiency and liver depression type premature ovarian failure has significant clinical effect, can effectively improve the level of sex hormones, uterine hemodynamics, and increase the ovarian reserve function of patients, worthy of clinical promotion.

Keywords: Acupuncture; Baliao point isolated ginger moxibustion; Kidney deficiency and liver depression; Premature ovarian failure; Sex hormone; Daughter artery flow

卵巢早衰 (Premature ovarian failure, POF) 是由于多种原因引起的女性不孕、闭经等为特征的常见疾病, 患者年龄低于 40 岁, 临床症状包括汗出、烦躁易怒、潮热、性欲下降等一系列围绝经期症状^[1-2]。近年来相关流行病学调查研究结果显示, 目前卵巢早衰发病率呈逐年升高趋势, 已经成为妇科

领域的常见病和疑难病, 给女性患者身心健康以及夫妻生活带来了痛苦, 严重影响患者生活质量^[3-4]。西医对于卵巢早衰的治疗, 主要采用激素替代疗法, 但是激素替代疗法的长期使用可导致患者子宫内膜过度增生, 患者罹患乳腺癌以及子宫内膜癌的风险增加^[5-6]。而我国传统中医药在卵巢早衰的治疗方

面，具有疗效确切、安全可靠等优势，获得了越来越多学者的关注^[7]。为了进一步提高卵巢早衰患者临床疗效，本研究探讨分析“益肾固冲调神法”针灸联合八髎穴隔姜灸治疗肾虚肝郁型卵巢早衰，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2022 年 1 月~2023 年 1 月我院收治的卵巢早衰患者 71 例，按照随机数字表法将其分为观察组 36 例、对照组 35 例。两组临床资料比较无差异 ($P>0.05$)，见表 1。研究经伦理审核批准。

表 1 临床资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	年龄(岁)	病程(年)	BMI(kg/m ²)	孕次(次)
观察组	36	35.04±3.12	1.43±0.39	23.10±2.36	0.95±0.25
对照组	35	34.79±3.49	1.49±0.41	23.27±2.83	1.02±0.27

1.2 纳入标准与排除标准 纳入标准：①参照《卵巢早衰中医诊疗指南评价与修订》^[8]确定患者诊断标准；②参照《中药新药临床研究指导原则（试行）》^[9]中肾虚肝郁型闭经相关辨证，主症：患者 40 岁之前出现月经后期、量少，甚至闭经，阴道干涩、腰膝酸软、情绪低落且伴有抑郁；次症：性欲下降，倦怠乏力，潮热汗出或畏寒肢冷，头晕耳鸣，善太息、乳房胀痛、胸胁胀痛、烦躁易怒，失眠多梦；舌淡苔薄或舌红少苔，脉弦细沉。③年龄 25~40 岁，既往月经规律；④患者知情同意。排除标准：①近 3 个月服用过激素类药物或免疫抑制剂患者；②先天性生殖系统发育异常；③对本研究药物过敏患者。

1.3 方法 对照组：给予患者戊酸雌二醇/雌二醇环丙孕酮片（商品名：克龄蒙；法国 DELPHARM Lille S. A. S.；HJ20160683），每次 1 片，每日 1 次，连续服用 21d 后停止用药 7d 再继续服用，共服用 3 个月。观察组：在上述对照组治疗基础上，联合使用“益肾固冲调神法”针灸与八髎穴隔姜灸治疗，具体如下：①针刺治疗：使用一次性无菌针灸针（华佗牌一次性使用无菌针灸针，江苏医疗用品厂有限公司），患者取仰卧位，取神庭、百会、印堂、关元、大赫（双侧）、归来（双侧）、子宫（双侧）、足三里（双侧）、三阴交（双侧）、太冲（双侧）、太溪（双侧）、公孙（双侧），针刺后留针 20min；患者转为俯卧位，取肾俞、肝俞、次髎穴，针刺以酸胀得气为准，肾俞、肝俞加用电针，疏密波，留针 20min。针刺治疗隔日 1 次，连续治疗 3 个月为 1 个疗程。②八髎穴隔姜灸：患者取俯卧位，选择八髎穴，将生姜汁涂抹于八髎穴为中心的半径约 5cm 区域内，然后再穴位上铺上生姜片，直径约 3~4cm，厚度约 2~3cm，然后再生姜点燃艾炷，若患者感觉皮肤灼热灼痛，将生姜片抬起，去除艾灰后更换新的艾炷，每次 3 壮，每天 1 次，每周 5 天，连续治疗 3 个月为 1 个疗程。

1.4 观察指标 ①临床疗效：参照文献标准，治

愈：患者治疗后临床症状、体征基本消失，患者停药后月经维持 3 个周期以上，且月经周期恢复正常水平，测定患者促卵泡生成素（FSH）、促黄体生成素（LH）以及雌激素（E2）均恢复正常水平，或不孕患者妊娠；显效：患者治疗后临床症状、体征有明显好转，患者停药后月经来潮且 3 次以上月经周期恢复正常，患者 FSH、LH 以及 E2 水平有所改善但未恢复正常水平；有效：患者治疗后临床症状、体征有所好转，停药后月经来潮，但月经周期未恢复正常，患者 FSH、LH 以及 E2 水平未恢复正常水平；无效：治疗后症状、体征无改善甚至加重，始终无月经来潮。治疗总有效率=1-无效率。②性激素水平变化：治疗前、治疗后，于月经来潮后 2~4d 进行检测，抽取患者空腹肘静脉血，采用电化学发光法检测患者血清性激素水平变化，包括 FSH、LH 以及 E2。③子宫动脉血流及卵巢功能变化：采用 HD11XE 型飞利浦彩色多普勒超声诊断仪经阴道超声检查，分别于治疗前、治疗后月经周期第 2 天进行检查，检查前患者充分休息，排除由于运动因素的影响。检查时取膀胱截石位，在阴道探头外套上消毒避孕套，涂少量耦合剂，经患者阴道将探头轻缓送入。读取患者子宫动脉血流参数，测量子宫动脉收缩期峰值流速（PSV）、舒张末期流速（EDV），由软件自动计算阻力指数 RI， $RI = (PSV - EDV) / PSV$ ；并测定患者卵巢体积、窦卵泡计数（AFC）。

1.5 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 25.0，计量资料比较采用 t 检验，计数资料比较采用 χ^2 检验， $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 观察组治疗总有效率高于对照组 ($P<0.05$)，见表 2。

表 2 临床疗效比较 [n (%)]

组别	n	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	36	19(52.78)	9(25.00)	6(16.67)	2(5.56)	94.44
对照组	35	13(37.14)	8(22.86)	5(14.29)	9(25.71)	74.29

2.2 性激素水平比较 治疗后两组患者血清 FSH、LH 均较治疗前显著降低 ($P<0.05$)，血清 E2 水平较治疗前显著升高 ($P<0.05$)，且治疗后两组比较具有统计学差异 ($P<0.05$)，见表 3。

表 3 两组性激素水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	FSH(U/L)	LH(U/L)	E2(pg/mL)
观察组 (n=36)	治疗前	68.35±17.38	65.74±13.42	17.39±4.31
	治疗后	37.95±9.84* [△]	36.82±9.30* [△]	31.64±7.84* [△]
对照组 (n=35)	治疗前	69.28±18.32	64.98±14.20	17.04±4.52
	治疗后	45.06±11.74 [△]	43.47±10.73 [△]	25.62±5.29 [△]

注：与同期对照组比较，* $P<0.05$ ；与治疗前比较，[△] $P<0.05$ （下同）

2.3 子宫动脉血流比较 治疗后两组患者子宫动脉血流 PSV、EDV 较治疗前显著升高，阻力指数 RI 较

治疗前显著降低 ($P<0.05$), 且治疗后观察组患者 PSV、EDV 高于对照组, RI 低于对照组 ($P<0.05$), 见表 4。

表 4 两组子宫动脉血流比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	PSV(cm/s)	EDV(cm/s)	RI
观察组 ($n=36$)	治疗前	30.48 $\pm$ 2.31	6.03 $\pm$ 1.25	0.80 $\pm$ 0.11
	治疗后	38.73 $\pm$ 2.99 ^{*Δ}	11.65 $\pm$ 2.95 ^{*Δ}	0.70 $\pm$ 0.10 ^{*Δ}
对照组 ($n=35$)	治疗前	29.75 $\pm$ 3.15	6.37 $\pm$ 1.41	0.79 $\pm$ 0.13
	治疗后	35.62 $\pm$ 2.37 ^{Δ}	9.23 $\pm$ 2.16 ^{Δ}	0.74 $\pm$ 0.07 ^{Δ}

2.4 卵巢功能比较 治疗后两组患者卵巢体积及 AFC 个数较治疗前显著升高 ($P<0.05$), 且治疗后两组比较具有显著差异 ($P<0.05$), 见表 5。

表 5 两组卵巢体积及 AFC 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	卵巢体积(cm)	AFC(个)
观察组 ($n=36$)	治疗前	2.46 $\pm$ 0.51	4.28 $\pm$ 1.25
	治疗后	6.37 $\pm$ 1.03 ^{*Δ}	8.09 $\pm$ 1.49 ^{*Δ}
对照组 ($n=35$)	治疗前	2.41 $\pm$ 0.53	4.36 $\pm$ 1.33
	治疗后	5.21 $\pm$ 0.92 ^{Δ}	6.27 $\pm$ 1.52 ^{Δ}

3 讨 论

目前, 对于卵巢早衰的发病机制尚未完全阐明, 学者研究认为, 卵巢早衰与患者心理压力、遗传因素、环境因素、病毒性感染以及免疫因素等多种因素有关, 同时也是育龄期女性妊娠和生育的主要原因^[10-11]。卵巢早衰患者卵泡数目减少, 孕激素及雌激素分泌降低, FSH 水平显著升高^[12]; 此外, 子宫内血供是维持卵巢正常功能以及子宫正常功能的基础, 与雌激素水平密切相关, 卵巢早衰发生时, 卵泡上 FSH 受体减少, 同时加之卵巢应答能力的降低, 导致卵泡发育不良, 最终引发血管收缩, 子宫内血供减少, 最终导致月经紊乱、子宫萎缩, 甚至引发不孕^[13-14]。目前临床对于卵巢早衰的治疗, 主要包括激素替代疗法、免疫抑制剂疗法、卵巢移植以及促排卵治疗等, 其治疗目的在于改善患者低雌激素水平导致的各类并发症。戊酸雌二醇/雌二醇环丙孕酮片是卵巢早衰患者激素替代疗法的一种常用药物, 可有效调节患者体内激素水平^[15]。

卵巢早衰属于我国传统中医学“闭经”“不孕”“血枯”等范畴, 中医认为卵巢早衰的发生与先天之本肾以及后天之本脾具有密切的关系, 其主要病机大致可分为情志失调、冲任失养、肾精亏虚, 根据上述病机, 于晓华教授提出了“益肾固冲调神法”针刺治疗^[16]。在选穴上, 选用太冲、三阴交, 舒肝理气、解郁调神; 神庭、百会、印堂, 三穴均为头部腧穴, 经过所过, 主治所及, 可加强调理脑神之功, 而现代医学研究发现, 脑神可通过肾-天癸-冲任-胞宫女性生殖轴进行调控, 从而维持女性正常的生理以及生殖功能^[17]; 关元为任脉穴、足三阴经交

会穴和小肠募穴, 主之气血诸证, 可调和阴阳, 为生殖要穴; 太溪、大赫属于足少阴肾经, 肾俞为肾之背俞穴, 太溪属于肾之原穴, 三穴合用, 可补肾填精, 以恢复肾、天癸对生殖的主导作用; 公孙属于足太阴脾经, 与大赫同用, 可调冲脉气血, 充养胞宫。此外, 八髎穴位于腰骶部, 属于足太阳膀胱经, 八髎穴作为妇科疾病的敏感反射区域, 具有强腰壮肾、调补冲任、调经理气以及散瘀止血之功效, 是治疗女性妇科疾病的常用效穴^[18-19]。在八髎穴进行隔姜灸不仅在该区域具有温热作用, 同时生姜透皮吸收后可在体内发挥相应的药理作用。

本研究结果显示, 观察组临床疗效更佳, 且观察组患者治疗后 FSH、LH 水平降低, E2 水平升高。与学者相关研究报道结果相似^[20], 提示“益肾固冲调神法”针灸联合八髎穴隔姜灸治疗肾虚肝郁型卵巢早衰, 可有效提高患者治疗临床疗效, 且对患者性激素水平具有显著的改善作用。通过针刺以及八髎穴隔姜灸, 可有效改善患者子宫动脉血流, 升高 PSV、EDV 水平, 同时降低 RI 水平, 增加卵巢体积以及窦卵泡个数, 从而有效改善患者卵巢储备功能。

综上所述, “益肾固冲调神法”针灸联合八髎穴隔姜灸治疗肾虚肝郁型卵巢早衰临床疗效显著, 可有效改善患者性激素水平、子宫血流动力学, 并增加患者卵巢储备功能, 值得临床推广。

参考文献

[1] Shareghi-Oskoue O, Aghebati-Maleki L, Yousefi M. Transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells to treat premature ovarian failure [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12 (1): 454.

[2] Cai L, Zong DK, Tong GQ, et al. Apoptotic mechanism of premature ovarian failure and rescue effect of Traditional Chinese Medicine: a review [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 41 (3): 491-498.

[3] 黄青霞, 韩毓, 蒋英彩, 等. 职业女性卵巢早衰的影响因素调查 [J]. 中国计划生育学杂志, 2021, 29 (12): 2513-2516, 2529.

[4] 顾海娜, 赵德珍. 适龄女性卵巢早衰相关因素调查及 logistic 预测模型构建 [J]. 中国妇幼保健, 2022, 37 (24): 4694-4697.

[5] 阮凡, 石吟, 李丽洁. 中药补肾养血方联合激素替代法对卵巢早衰患者性激素水平及症状评分的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36 (12): 118-120, 123.

[6] 杨静, 伊婷, 易金玲. 卵巢早衰患者淋巴细胞亚群、MIF 水平对激素替代治疗预后的影响 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2022, 14 (6): 81-84.

[7] 王玲玲, 彭友晋, 游维, 等. 补肾疏肝方联合激素替代疗法治疗卵巢早衰合并负性情绪患者疗效及对性激素水平的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31 (2): 243-247.

[8] 黄旭春, 曹晓静, 林楠, 等. 卵巢早衰中医诊疗指南评价与修订 [J]. 河南中医, 2019, 39 (1): 82-86.

[9] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则 (试行) [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 104-107.

[10] Cai J, Chen S, Guo S, et al. RegEMR: a natural language processing system to automatically identify premature ovarian decline from Chinese electronic medical records [J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2023, 23 (1): 126.

俞募配穴调控脑-肠轴对急性后循环脑梗死伴 胃肠功能障碍患者预后的影响*

徐冉¹, 易小琳¹, 姜震宇¹, 胡静², 周荣³, 李健林⁴, 柴贞¹, 王力¹, 严雪丽¹, 朱静¹, 李永新^{1,△}

(1. 川北医学院附属遂宁中医医院, 四川 遂宁 629000; 2. 乐山市中医医院, 四川 乐山 614000;

3. 平昌县中医医院, 四川 巴中 636400; 4. 广元利州区中医医院, 四川 广元 628000.)

摘要: 目的: 本研究旨在观察俞募配穴电针治疗对急性后循环脑梗死伴胃肠功能障碍患者的神经功能和胃肠功能的改善作用。方法: 2021 年 5 月至 2023 年 1 月, 将四川省四所医院 126 名患者随机分为电针组、假电针组和对照组, 每组 42 例。在常规治疗基础上, 电针组和假电针组予以早期 3 天的电针治疗。比较治疗第 3 天和第 28 天/出院时患者神经功能缺损程度评分 (NIHSS)、急性缺血性中风中医症征积分以及胃肠功能症状疗效评分的差异。结果: 与对照组相比, 电针组第 3 天 NIHSS 评分下降 ($P<0.05$); 与两组相比, 电针组第 28 天/出院时的 NIHSS 评分均下降 ($P<0.05$); 与对照组相比, 电针组治疗第 3 天及第 28 天/出院时的中医症征积分均降低 ($P<0.05$); 电针组在胃肠功能评分方面总有效率达到 66.7%, 显著高于假电针组 (50.0%) 和对照组 (33.3%) ($P=0.039$); 与两组相比, 电针组在治疗第 3 天胃肠减压量均减少; 与两组相比, 电针组第 28 天/出院时的胃肠功能评分均降低 ($P<0.05$)。结论: 俞募配穴电针治疗能改善急性后循环脑梗死伴胃肠功能障碍患者的神经功能及胃肠功能。

关键词: 急性后循环梗死; 胃肠功能障碍; 俞募配穴法; 脑-肠轴

中图分类号: R 246.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3649 (2024) 06-0200-05

Enhanced Prognosis of Acute Posterior Circulation Infarction with Gastrointestinal Dysfunction by Regulating the Brain-Gut Axis using a Combination of Back-Shu and Front-Mu Acupoints/XU Ran, YI Xiaolin, JIANG Zhenyu, et al//
(Suining Traditional Chinese Medicine Hospital affiliated with North Sichuan Medical Colleg, Suining Sichuan 629000, China)

Abstract: Objective: The aim of this study is to observe the improvement effect of acupoint combination of Shu and Mu electroacupuncture on neurological and gastrointestinal function in patients with acute posterior circulation cerebral infarction accompanied by gastrointestinal dysfunction. Methods: From May 2021 to January 2023, 126 patients from four hospitals in Sichuan Province were randomly divided into an electroacupuncture group, a sham electroacupuncture group, and a control group, with 42 patients in each group. On the basis of routine treatment, the electroacupuncture group and the sham electroacupuncture group were given early 3-day electroacupuncture treatment. Compare the differences in neurological impairment score (NIHSS), tradi-

* 基金项目: 四川省中医药管理局科学技术研究专项 (编号: 2021MS129)。第一作者: 徐冉, 硕士研究生在读, 研究方向: 中医内科学, E-mail: 1439433921@qq.com。△ 通讯作者: 李永新, 硕士, 中西医结合主任医师, 研究方向: 中西医结合内科, 重症医学方向, E-mail: 540235791@qq.com。

- [11] 加秀凤, 张超, 罗丹, 等. 首乌丸对卵巢早衰模型大鼠 SIRT1/PGC-1 α /Cytochrome C 通路的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29 (3): 413-419.
- [12] 李佳妮, 马堃, 范晓迪, 等. 基于 sirtuins 探讨卵巢早衰的发生机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38 (10): 1901-1906.
- [13] 巴鑫, 陈哲, 黄瑶, 等. 归肾丸对卵巢早衰大鼠骨密度及骨微结构的影响及其机制研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29 (3): 390-396.
- [14] 李煜, 黎小斌, 曹晓静. 基于网络药理学和分子对接探讨二仙汤治疗卵巢早衰的作用机制 [J]. 海南医学院学报, 2022, 28 (14): 1096-1107.
- [15] 刘萍, 黄健, 谢宝国. 血红素加氧酶-1 基因转染骨髓间充质干细胞移植对化疗所致卵巢早衰的保护作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39 (5): 679-683.
- [16] 于晓华, 李媛, 张宁, 等. 益肾固冲调神法针灸治疗亚临床期早发性卵巢功能不全临床研究 [J]. 山东中医杂志, 2021, 40 (9): 967-971.
- [17] 王洋, 陈姝婷, 朱景茹, 等. 补肾疏肝法对卵巢早衰大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴的影响 [J]. 福建中医药, 2021, 52 (6): 25-26, 35.
- [18] 吴松, 严江天. 足三里、关元温针灸联合八髎穴隔姜灸治疗卵巢早衰的临床观察 [J]. 中国针灸, 2018, 38 (12): 1267-1271.
- [19] 魏彤. 八髎穴治疗妇科疾病临床研究进展 [J]. 中医学, 2022, 11 (4): 630-635.
- [20] 胡晓惠, 林青, 胡云华. 归肾丸联合克龄蒙治疗卵巢早衰的疗效及对卵巢功能的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2023, 50 (4): 97-100.

(收稿日期 2023-12-21)