

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
МЕЛАТОНИНА И ПРОИЗВОДНОГО 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА
В СНИЖЕНИИ ГЕМАТОТОКСИЧНОСТИ
КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ
У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС**

Аннотация. В эксперименте на мышах с карциномой легкого Льюис показано, что мелаксен и мексидол уменьшают повреждение эритрокариоцитарного ростка кроветворения при химиолучевой терапии. Мелаксен эффективнее мексидола восстанавливает эритропоэз и снижает степень тяжести анемии после химиолучевой терапии. При этом мелаксен и мексидол не снижают терапевтической эффективности противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: мелаксен, мексидол, гематотоксичность, эритропоэз, химиолучевая терапия.

Abstract. The experiments on mice with Lewis lung carcinoma showed that melaxen and mexidol decreased the injury of the erythrocytes blood-forming germ after application of chemoradiotherapy. Melaxen more effectively than mexidol restored erythropoiesis and decreased anemia after chemoradiotherapy application. Melaxen and mexidol produced no decrease in the therapeutic efficiency of antitumor therapy.

Key words: melaxen, mexidol, hematotoxicity, erythropoiesis, chemoradiotherapy.

Использование комбинированного химиолучевого лечения злокачественных опухолей является одним из перспективных направлений в клинической онкологии [1]. Применение при этом некоторых химиопрепаратов в качестве радиомодификаторов обеспечивает избирательное повышение радиочувствительности опухолевых клеток. Однако синхронное применение лучевой терапии с химиопрепаратами наряду с усилением резорбции опухоли сопровождается более выраженными побочными реакциями, в том числе миелосупрессией [2]. Учитывая важную роль активации свободнорадикальных процессов в развитии осложнений лучевой и химиотерапии, можно утверждать, что является перспективным использование средств с антиоксидантным действием для снижения основных проявлений побочного действия химиолучевой терапии.

Целью работы явилось сравнительное изучение эффективности мелатонина (мелаксена) и производного 3-гидроксипиридина (мексидола) в снижении гематотоксичности комбинированной химиолучевой терапии у мышей с карциномой легкого Льюис.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 95 мышах-самках линии C57Bl/6 массой 20–22 г разводки питомника НЦБМТ РАМН «Столбовая». Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETS № 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.) и Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997

и одобрены локальным этическим комитетом. Суспензию клеток карциномы легкого Льюис (КЛЛ) (10^6 клеток в растворе Хенкса) перевивали внутримышечно в область бедра. Животные были разделены на четыре группы. Дизайн исследований представлен в табл. 1.

Таблица 1

Дизайн исследований

Группы животных	Режим эксперимента
Интактные животные ($n = 15$)	Опухолевые клетки КЛЛ не вводили, лучевая и лекарственная терапия не проводилась
1-я – опухолевый штамм КЛЛ (контроль) ($n = 20$)	$1 \cdot 10^6$ опухолевых клеток КЛЛ внутримышечно
2-я – КЛЛ, циклофосфан (ЦФ), лучевая терапия (ЛТ) – КЛЛ + ЦФ + ЛТ ($n = 20$)	$1 \cdot 10^6$ опухолевых клеток КЛЛ внутримышечно; циклофосфан – внутривенно в дозе 60 мг/кг, два раза с интервалом 120 ч начиная с седьмых суток после имплантации опухолевых клеток за 20–30 мин до облучения; лучевая терапия – локально на область первичного опухолевого узла в дозе 2 Гр два раза с интервалом 120 ч (СОД 4 Гр) начиная с седьмых суток эксперимента
3-я – КЛЛ, циклофосфан, лучевая терапия, мелаксен 45 мг/кг – КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мелаксен ($n = 20$)	Так же, как и во 2-й группе, мелаксен внутримышечно в дозе 45 мг/кг ежедневно начиная с седьмых суток после имплантации опухолевых клеток в течение 14 суток
4-я – КЛЛ, циклофосфан, лучевая терапия, мексидол 50 мг/кг – КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мексидол ($n = 20$)	Так же, как и во 2-й группе, мексидол внутримышечно в дозе 50 мг/кг ежедневно, начиная с седьмых суток эксперимента в течение 14 суток

Облучение животных проводили с помощью аппарата АГАТ-Р1. Для оценки гематотоксичности на 14-е и 22-е сутки опыта у шести животных из каждой группы под эфирным наркозом производили забор крови с последующим определением содержания гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов. У животных выделяли костный мозг из бедренной кости и на предметном стекле готовили мазок костного мозга.

На 22-е сутки эксперимента животных выводили из опыта под эфирным наркозом. Эффективность лечения оценивали по массе первичного опухолевого узла, антиметастатический эффект – по среднему числу поверхностных легочных метастазов на одно животное [3].

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с помощью пакета статистических программ – русифицированной версии программы STATISTICA 6.0 (StatSoft – Russia, 1999). Определялись основные статистические характеристики: среднее, ошибка среднего. Достоверность различий рассчитана с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Анализ периферической крови показал, что на 14-е сутки эксперимента на фоне опухолевого роста развивались анемия и лейкопения с выраженной лимфопенией (табл. 2).

Таблица 2

Влияние мелаксена и мексидола на клеточный состав периферической крови мышей с КЛЛ при химиолучевой терапии на 14-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Показатели	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ + + ЦФ + ЛТ	КЛЛ + ЦФ + + ЛТ + мелаксен	КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мексидол
Гемоглобин, г/л	143,4 ± 3,15	61,17 ± 1,9 $p_1 < 0,05$	66,83 ± 2,91 $p_1 < 0,05$	78,2 ± 3,94 $p_{1,2,3} < 0,05$	74,25 ± 6,5 $p_1 < 0,05$
Эритроциты ×10 ¹² /л	8,23 ± 0,18	3,97 ± 0,09 $p_1 < 0,05$	3,07 ± 0,1 $p_{1,2} < 0,01$	3,36 ± 0,26 $p_{1,2} < 0,05$	3,46 ± 0,2 $p_{1,2} < 0,05$
Тромбоциты ×10 ⁹ /л	376,7 ± 14,7	356,7 ± 18,6	373,3 ± 76,5	342,0 ± 61,8	407,5 ± 54,5
Лейкоциты ×10 ⁹ /л	5,84 ± 0,48	3,52 ± 0,3 $p_1 < 0,05$	11,28 ± 2,04 $p_{1,2} < 0,01$	3,54 ± 0,3 $p_{1,3} < 0,01$	3,0 ± 0,5 $p_{1,3} < 0,01$
Нейтрофилы ×10 ⁹ /л	1,7 ± 0,21	2,26 ± 0,21	8,4 ± 2,07 $p_{1,2} < 0,05$	2,36 ± 0,29 $p_3 < 0,05$	2,1 ± 0,44 $p_3 < 0,05$
Лимфоциты ×10 ⁹ /л	4,1 ± 0,32	1,28 ± 0,15 $p_1 < 0,05$	2,42 ± 0,26 $p_{1,2} < 0,01$	0,92 ± 0,1 $p_{1,3} < 0,01$	0,79 ± 0,15 $p_{1,3} < 0,01$

Примечание. p_1 – статистическая значимость различий данных с интактной группой; p_2 – с группой КЛЛ; p_3 – с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ.

Сочетанная химиолучевая терапия приводила к усилению эритроцитопении у животных (количество эритроцитов достоверно снижалось на 22,7 % по сравнению с нелечеными животными) и развитию лейкоцитоза за счет увеличения числа нейтрофилов на 271 % ($p < 0,01$), вероятно, в связи с развитием асептического воспаления в ткани опухоли. Мелаксен и мексидол достоверно предупреждали развитие лейкоцитоза после химиолучевой терапии: количество нейтрофилов не отличалось от такового у интактных животных и в группе опухоленосителей, не получавших лечения. Число лимфоцитов при этом оставалось ниже, чем у интактных животных, и не отличалось от такового у мышей, не получавших лечения (см. табл. 2). Кроме того, мелаксен, в отличие от мексидола, способствовал увеличению содержания гемоглобина на 17 % по отношению к группе с химиолучевой терапией.

К 22-м суткам эксперимента у нелеченых животных развивалась тромбоцитопения, которая сохранялась и в группе с мелаксеном. В группах с химиолучевой терапией и ее сочетанием с мексидолом количество тромбоцитов не отличалось от такового у интактных животных (табл. 3).

У животных в группе с химиолучевой терапией отмечалась более выраженная эритроцитопения, чем у опухоленосителей без лечения: количество эритроцитов достоверно уменьшалось на 22,3 %. Аналогичная картина отмечалась и в группе с дополнительным использованием мексидола. Мелаксен, в отличие от мексидола, уменьшал степень тяжести анемии после химиолучевой терапии, достоверно увеличивая уровень гемоглобина на 11,6 % по отношению к животным в группе с одной химиолучевой терапией. При этом количество эритроцитов не отличалось от такового у животных-опухоленосителей без лечения (табл. 3).

В группе КЛЛ к 22-м суткам отмечались лимфопения и нейтрофиллез без изменений общего количества лейкоцитов по сравнению с интактными

животными. В группе с ЦФ + ЛТ регистрировался лейкоцитоз с нейтрофиллезом и увеличением числа лимфоцитов на 88,9 % ($p < 0,05$) по отношению к группе КЛЛ. В группах с мелаксеном и мексидолом на фоне лейкоцитоза с нейтрофиллезом количество лимфоцитов превышало таковое в группе с ЦФ + ЛТ на 107 % и 135 % соответственно ($p < 0,05$) и становилось выше, чем у интактных животных (табл. 3).

Таблица 3

Влияние мелаксена и мексидола на клеточный состав периферической крови мышей с КЛЛ при химиолучевой терапии на 22-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Показатели	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ + + ЦФ + ЛТ	КЛЛ + ЦФ + + ЛТ + мелаксен	КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мексидол
Гемоглобин, г/л	143,4 ± 3,15	47,55 ± 3,68 $p_1 < 0,001$	69,7 ± 0,78 $p_{1,2} < 0,001$	77,8 ± 3,45 $p_{1,2,3} < 0,05$	70,8 ± 0,51 $p_{1,2} < 0,01$
Эритроциты ×10 ¹² /л	8,23 ± 0,18	3,68 ± 0,23 $p_1 < 0,001$	2,86 ± 0,15 $p_{1,2} < 0,05$	3,62 ± 0,55 $p_1 < 0,001$	2,75 ± 0,16 $p_{1,2} < 0,05$
Тромбоциты ×10 ⁹ /л	376,7 ± 14,7	260,0 ± 27,8 $p_1 < 0,001$	307,1 ± 33,8	250,0 ± 15,16 $p_1 < 0,001$	313,3 ± 29,4
Лейкоциты ×10 ⁹ /л	5,84 ± 0,48	5,04 ± 0,52	24,18 ± 6,15 $p_{1,2} < 0,01$	35,98 ± 2,7 $p_{1,2} < 0,001$	39,7 ± 8,7 $p_{1,2} < 0,01$
Нейтрофилы ×10 ⁹ /л	1,7 ± 0,21	3,3 ± 0,46 $p_1 < 0,001$	19,29 ± 5,08 $p_{1,2} < 0,05$	27,93 ± 2,4 $p_{1,2} < 0,05$	29,44 ± 6,7 $p_{1,2} < 0,01$
Лимфоциты ×10 ⁹ /л	4,1 ± 0,32	1,62 ± 0,13 $p_1 < 0,001$	3,06 ± 0,61 $p_2 < 0,05$	6,34 ± 1,2 $p_{1,2,3} < 0,05$	7,2 ± 1,37 $p_{1,2,3} < 0,05$

Примечание. p_1 – статистическая значимость различий данных с интактной группой; p_2 – с группой КЛЛ; p_3 – с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ.

Клеточный состав костного мозга мышей с КЛЛ без лечения к 14-м суткам не отличался от такового у интактных животных. В группе с химиолучевой терапией к этому времени наблюдалось достоверное увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов на 34,8 % по отношению к группе КЛЛ и на 33,7 % по сравнению с интактными мышами, угнетение эритроидного ростка кроветворения, что выражалось в снижении числа базофильных и полихроматофильных нормоцитов в 3,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, а также достоверное увеличение количества моноцитов в два раза по отношению к интактным животным и лимфоцитов в 6,3 раза по сравнению с группой КЛЛ (табл. 4).

В группах с сочетанием химиолучевой терапии с мелаксеном и мексидолом отмечалось статистически значимое снижение содержания палочкоядерных нейтрофилов на 64,4 и 40 % соответственно по отношению к группе КЛЛ, а также сокращение количества полихроматофильных нормоцитов в 2,2 и 3,4 раза по сравнению с группой, в которой использовалась одна химиолучевая терапия. Однако, в отличие от последней, в группах с мелаксеном и мексидолом содержание базофильных нормоцитов не отличалось от такового у интактных животных (табл. 4).

На 22-е сутки в группе КЛЛ + ЦФ + ЛТ регистрировалось увеличение количества метамиелоцитов в 4,7 раза по отношению к интактным животным и выраженное угнетение эритроидного ростка кроветворения – полностью

отсутствовали базофильные нормоциты и снижалось количество полихроматофильных нормоцитов в 24,7 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой КЛЛ и интактными животными (табл. 5).

Таблица 4

Влияние сочетанного применения химиолучевой терапии с мелаксеном и мексидолом на клеточный состав костного мозга мышцей с КЛЛ на 14-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Показатели, %	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ + ЦФ + ЛТ	КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мелаксен	КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мексидол
Бласты	$0,1 \pm 0,06$	$0,8 \pm 0,2$	$0,44 \pm 0,2$	$1,22 \pm 0,5$	$1,15 \pm 0,4$
Миелоциты	$6,0 \pm 2,3$	$7,0 \pm 1,4$	$6,24 \pm 1,7$	$5,5 \pm 1,9$	$4,0 \pm 1,3$
Метамиелоциты	$0,53 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,33$	$1,65 \pm 0,54$	$0,9 \pm 0,38$
Палочко-ядерные нейтрофилы	$30,5 \pm 3,5$	$36,5 \pm 4,8$	$24,88 \pm 4,2$	$13,0 \pm 2,5$ $p_{1,2} < 0,01$	$21,9 \pm 3,4$ $p_2 < 0,05$
Сегментоядерные нейтрофилы	$23,4 \pm 2,1$	$23,2 \pm 2,6$	$31,28 \pm 1,74$ $p_{1,2} < 0,05$	$36,8 \pm 3,34$ $p_{1,2} < 0,05$	$41,2 \pm 5,9$ $p_2 < 0,05$
Нормоциты базофильные	$1,67 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,37$	$0,52 \pm 0,21$ $p_1 < 0,05$	$1,3 \pm 0,42$	$0,9 \pm 0,6$
Нормоциты полихроматофильные	$23,6 \pm 3,7$	$19,0 \pm 3,8$	$7,44 \pm 0,53$ $p_{1,2} < 0,05$	$3,3 \pm 1,28$ $p_{1,2,3} < 0,05$	$2,2 \pm 0,9$ $p_{1,2,3} < 0,05$
Нормоциты оксифильные	$0,5 \pm 0,25$	$0,15 \pm 0,09$	$3,2 \pm 1,09$ $p_2 < 0,05$	$1,15 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0,16$
Моноциты	$4,9 \pm 0,5$	$8,2 \pm 2,2$	$10,08 \pm 1,25$ $p_1 < 0,05$	$15,8 \pm 2,2$ $p_1 < 0,05$	$12,3 \pm 0,77$ $p_1 < 0,01$
Лимфоциты	$6,5 \pm 1,9$	$2,2 \pm 0,3$	$13,52 \pm 2,09$ $p_2 < 0,01$	$18,5 \pm 4,07$ $p_2 < 0,05$	$13,8 \pm 1,25$ $p_{1,2} < 0,05$

Примечание. p_1 – статистическая значимость различий данных с интактной группой; p_2 – с группой КЛЛ; p_3 – с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ.

В группе с мелаксеном в костном мозге сохранялись базофильные нормоциты, достоверно увеличивалось содержание полихроматофильных нормоцитов в 4,54 раза и оксифильных нормоцитов в 18 раз по сравнению с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ. При использовании мексидола в сравнении с мелаксеном отмечались менее четкие изменения в эритроидном ростке кроветворения – также сохранялись базофильные нормоциты, и их количество не отличалось от такового в группе КЛЛ, отмечалась тенденция к росту числа полихроматофильных нормоцитов, однако эти изменения не оказались статистически значимыми по сравнению с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ (табл. 5).

Не менее интересным представлялось оценить влияние мелаксена и мексидола на терапевтическую эффективность химиолучевой терапии. Нами выявлено, что масса первичной опухоли после одной химиолучевой терапии снизилась с $9,18 \pm 0,19$ до $6,97 \pm 0,18$ г ($p < 0,001$). При сочетании химиолучевой терапии с введением мелаксена и мексидола масса опухолевого узла составила $7,24 \pm 0,3$ и $7,28 \pm 0,17$ г соответственно, что не отличалось от тако-

вой в группе КЛЛ + ЦФ + ЛТ. Среднее число поверхностных метастазов в легких в группе КЛЛ + ЦФ + ЛТ достоверно снизилось с $95,7 \pm 8,2$ до $8,2 \pm 2,2$ г, а в группах с использованием мелаксена и мексидола – до $11, \pm 4,3$ и $8,4 \pm 2,9$ г соответственно, что не отличалось от данных в группе с одной химиолучевой терапией.

Таблица 5

Влияние сочетанного применения химиолучевой терапии
с мелаксеном и мексидолом на клеточный состав костного мозга
мышей с КЛЛ на 22-е сутки эксперимента ($M \pm m$)

Показатели, %	Интактные животные	Экспериментальные группы			
		КЛЛ	КЛЛ + + ЦФ + ЛТ	КЛЛ + ЦФ + + ЛТ + мелаксен	КЛЛ + ЦФ + ЛТ + мексидол
Бласты	$0,1 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,26$	$0,06 \pm 0,06$	$0,36 \pm 0,18$	$0,24 \pm 0,16$
Миелоциты	$6,0 \pm 2,3$	$6,65 \pm 3,1$	$3,54 \pm 0,66$	$3,68 \pm 0,64$	$3,12 \pm 0,83$
Метамиелоциты	$0,53 \pm 0,1$	$2,05 \pm 0,79$	$2,51 \pm 0,54$ $p_1 < 0,05$	$2,0 \pm 0,6$	$1,68 \pm 0,92$
Палочко- ядерные нейтрофилы	$30,5 \pm 3,5$	$33,85 \pm 7,4$	$44,9 \pm 5,06$	$41,0 \pm 6,11$	$31,76 \pm 3,97$
Сегменто- ядерные нейтрофилы	$23,4 \pm 2,1$	$23,55 \pm 9,15$	$36,08 \pm 4,66$	$32,64 \pm 5,6$	$41,84 \pm 1,18$ $p_1 < 0,01$
Нормоциты базофильные	$1,67 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,48$	$0,0 \pm 0,0$ $p_{1,2} < 0,05$	$0,72 \pm 0,15$ $p_{1,3} < 0,01$	$0,84 \pm 0,42$
Нормоциты полихромато- фильные	$23,6 \pm 3,7$	$27,5 \pm 7,09$	$1,11 \pm 0,27$ $p_{1,2} < 0,001$	$5,04 \pm 0,7$ $p_{1,2,3} < 0,01$	$8,08 \pm 4,05$ $p_{1,2} < 0,05$
Нормоциты оксифильные	$0,5 \pm 0,25$	$0,3 \pm 0,3$	$0,11 \pm 0,11$	$2,0 \pm 0,49$ $p_{2,3} < 0,05$	$1,28 \pm 0,83$
Моноциты	$4,9 \pm 0,5$	$3,25 \pm 1,28$	$7,23 \pm 1,12$	$6,08 \pm 0,5$	$3,84 \pm 0,88$
Лимфоциты	$6,5 \pm 1,9$	$1,95 \pm 0,53$ $p_1 < 0,05$	$3,54 \pm 0,92$	$5,04 \pm 0,8$ $p_2 < 0,05$	$5,44 \pm 1,43$

Примечание. p_1 – статистическая значимость различий данных с интактной группой; p_2 – с группой КЛЛ; p_3 – с группой КЛЛ + ЦФ + ЛТ.

Следовательно, мелаксен в сопоставимой с мексидолом степени предупреждает развитие лейкоцитоза на 14-е сутки эксперимента при химиолучевой терапии, но, в отличие от мексидола, эффективнее препятствовал снижению содержания гемоглобина в крови. Несмотря на более выраженное сокращение числа полихроматофильных нормоцитов в костном мозге на 14-е сутки эксперимента в группах с мелаксеном и мексидолом по сравнению с использованием одной химиолучевой терапии, к 22-м суткам мелаксен эффективнее мексидола способствовал увеличению содержания этих клеток, и их количество превышало таковое в группе КЛЛ + ЦФ + ЛТ.

Выводы

1. Мелаксен эффективнее мексидола восстанавливает эритропоэз и снижает степень тяжести анемии после химиолучевой терапии.

2. Мелаксен и мексидол не снижают терапевтической эффективности химиолучевой терапии.

Список литературы

1. **Канаев, С. В.** Принципы и обоснования химиолучевого лечения злокачественных опухолей / С. В. Канаев // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9, № 1. – С. 1–8.
2. **Черниченко, А. В.** Химиолучевая терапия немелкоклеточного рака легкого / А. В. Черниченко, А. В. Филимонов // Практическая онкология. – 2008. – Т. 9, № 1. – С. 16–20.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.

Сипров Александр Владимирович

доктор медицинских наук, доцент,
кафедра фармакологии с курсом
клинической фармакологии, Мордовский
государственный университет
им. Н. П. Огарева (г. Саранск)

E-mail: alek_sb@mail.ru

Siprov Alexander Vladimirovich

Doctor of medical sciences, associate
professor, sub-department of pharmacology
with a course of clinical pharmacology,
Mordovia State University
named after N. P. Ogaryov (Saransk)

Вашуркина Ирина Михайловна

аспирант, Мордовский государственный
университет им. Н. П. Огарева
(г. Саранск)

E-mail: alek_sb@mail.ru

Vashurkina Irina Mikhaylovna

Postgraduate student, Mordovia State
University named after N. P. Ogaryov
(Saransk)

УДК 615.27/.28:616.993.192.1:616-092.9

Сипров, А. В.

Сравнительная оценка эффективности мелатонина и производного 3-гидроксипиридина в снижении гематотоксичности комбинированной химиолучевой терапии у мышей с карциномой легкого Льюис / А. В. Сипров, И. М. Вашуркина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 4 (24). – С. 49–55.