

# 功能性鼻内镜手术后鼻黏膜囊泡的形成机制及囊液成分分析：一项组织生化学研究

侯静<sup>1</sup>, 房高丽<sup>1</sup>, 周兵<sup>2</sup>

1. 首都医科大学北京地坛医院 耳鼻喉科, 北京 100015

2. 首都医科大学北京同仁医院 鼻科, 北京 100730

**摘要:**目的 探讨功能性鼻内镜手术(functional endoscopy sinus surgery, FESS)后鼻腔内常见的鼻黏膜囊泡的形成因素和组织学特征,评估其对临床治疗的指导意义。**方法** 收集 10 例经 FESS 治疗的慢性鼻窦炎患者鼻腔鼻黏膜囊泡,采用组织形态学分析和扫描电镜检测囊泡组织,采用分光光度法检测囊液成份。**结果** 与正常黏膜相比,囊泡的上皮层增生( $P=0.023$ )和炎症细胞的浸润程度( $P=0.029$ )差异有统计学意义,黏膜腺体增生无显著差异( $P=0.631$ )。囊泡液中乳酸脱氢酶( $P<0.001$ )和谷丙转氨酶( $P<0.001$ )水平明显高于血清含量,而天冬氨酸转氨基转移酶( $P<0.001$ )和总蛋白( $P=0.001$ )水平明显降低。**结论** FESS 后发生的鼻黏膜囊泡是由高水肿的黏膜、局部炎症细胞浸润和组织渗出液组成,囊泡液中大量 LDH 及 AST 升高提示囊泡与手术创伤有关;对不阻塞术腔通气引流的囊泡无需处理;应强化术后随访综合治疗。

**关键词:**鼻腔黏膜囊泡;功能性鼻内镜术后;囊液成份;组织渗出物;上皮层水肿

**中图分类号:**R765.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-3770(2024)05-0001-05

**引用格式:**侯静,房高丽,周兵. 功能性鼻内镜手术后鼻黏膜囊泡的形成机制及囊液成分分析:一项组织生化学研究[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报,2024, 38(5):1-05. HOU Jing, FANG Gaoli, ZHOU Bing. Formation mechanism and cyst fluid composition analysis of nasal mucosal cysts after functional endoscopy sinus surgery[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(5):1-05.

## Formation mechanism and cyst fluid composition analysis of nasal mucosal cysts after functional endoscopy sinus surgery

HOU Jing<sup>1</sup>, FANG Gaoli<sup>1</sup>, ZHOU Bing<sup>2</sup>

1. Department of Otorhinolaryngology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

2. Department of Rhinology, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China

**Abstract: Objective** The objective of this study was to investigate the formatting factors and histological characteristics of nasal mucosal vesicles that commonly occurred in the nasal cavity after functional endoscopy sinus surgery (FESS). **Methods** We collected 10 cases of nasal mucosal vesicles from the nasal cavity of the patients with chronic rhinosinusitis after FESS. Vesicle tissues were assayed by histomorphological analysis and scanning electron microscope. The consistency of the liquid in the vesicles was examined by biochemistry analysis. **Results** Compared to normal mucosa, there were statistically significant differences in the proliferation of the epithelial layer ( $P=0.023$ ) and the degree of infiltration of inflammatory cells ( $P=0.029$ ) in the vesicles. At the same time, there was no statistically significant difference in the number of mucosal glands ( $P=0.631$ ). The levels of lactate dehydrogenase ( $P<0.001$ ) and alanine transaminase ( $P<0.001$ ) in the vesicular fluid were significantly higher than their levels in the blood. As for aspartate transaminase ( $P<0.001$ ) and total protein ( $P=0.001$ ), there were statistically significant decreases. **Conclusion** Nasal mucosal cysts occurring after FESS are composed of edematous mucosa, local infiltration of inflammatory cells, and exudate. A large amount of LDH and the increased AST level in the vesicle fluid suggested that the vesicles were related to surgical trauma. The vesicles that do not obstruct the ventilation and drainage of the surgical cavity do not need to be treated. The post-operative comprehensive treatment should be strengthened.

**Key words:** Nasal mucosal cyst; Functional endoscopic sinus surgery; Cyst fluid composition; Tissue exudate; Epithelial edema; Post operation

功能性鼻内镜术 (functional endoscopy sinus surgery, FESS) 是一种旨在重建鼻窦通气和黏膜纤毛清除功能的手术<sup>[1-4]</sup>, 由于鼻腔结构迂曲、腔道狭窄, 术后鼻腔护理不足时很容易导致鼻腔粘连, 从而影响手术效果。临床观察发现, FESS 术后 21 d 黏膜损伤处会出现一些小的、半透明的、分散的水泡, 通常称之为“囊泡”<sup>[5]</sup>。囊泡是黏膜腺过度分泌引起的“抗上皮化”的反应<sup>[6]</sup>。既往临床经验认为囊泡的存在与慢性鼻窦炎的复发有关, 在囊泡早期形成阶段进行干预和清理是必要的<sup>[7]</sup>。目前尚没有实验室证据表明鼻黏膜囊泡的性质, 因此无法从基础理论层次来阐明论证目前的临床处理方式是否合理。为此, 论文探讨黏膜囊泡的基本结构和物理化学性质, 旨在为临床预防和治疗提供一些建议。

## 1 资料与方法

### 1.1 病历资料

研究观察 2015 年 6 月至 2016 年 12 月期间在首都医科大学附属北京同仁医院耳鼻喉科行 FESS 的 262 例患者。研究纳入标准: ①慢性鼻窦炎伴/不伴鼻息肉入院拟手术的患者; ②18~65 岁; ③既往未行鼻内镜手术。排除标准: ①真菌性鼻窦炎、变应性鼻窦炎、纤毛不动综合征、阿司匹林不耐受三联征患者; ②术前 3 d 内、术后 2 周内应用激素。

研究经北京同仁医院伦理委员会审批 (编号: TRECKY 2017-033), 所有患者均签署知情同意书。记录所有患者一般情况、术后囊泡发生及持续时间。在发生囊泡的病例中选取囊泡直径  $\geq 5$  mm (图 1) 的 10 例患者作为研究对象, 其中男 6 例、女 4 例, 平均  $(37.6 \pm 13.9)$  岁。术后治疗包括: 鼻腔冲洗生理性海水 2 次/d, 连续 7 d; 口服盐酸莫西沙星, 0.4 g, 1 次/d, 连续 7 d; 鼻喷丙酸氟替卡松鼻喷雾剂, 每侧 2 喷, 2 次/d, 连续 30 d。分别在术后 14 d、1 个月和 3 个月时对患者进行门诊复查并随访。

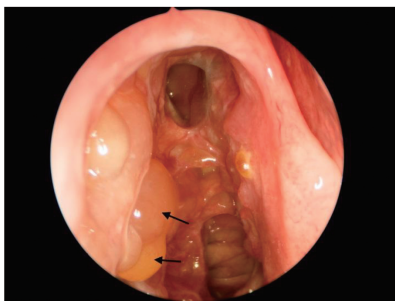


图 1 术后 21 d 鼻内镜下术腔情况 (箭头所示为黏膜囊泡)  
Figure 1 Nasal endoscopic view of the surgical cavity at the twenty-one days after surgery (arrows indicate mucosal cysts)

### 1.2 方法

采用筛窦组织钳夹取 10 例患者的鼻腔囊泡黏膜作为实验组, 同时钳取同一鼻腔内的相对正常黏膜作为对照组。黏膜标本在 4% 甲醛溶液中固定, 石蜡包埋后采用苏木精和伊红染色, 在 200 倍放大的光学显微镜 (尼康, 日本) 观察上皮细胞病变、炎性细胞浸润、黏膜下腺体增生情况, 并进行组织病理学评分。上皮细胞病变分为: 0 为排列完全整齐, + 为排列基本整齐, ++ 为排列稍显紊乱, +++ 为排列紊乱中断。在显微镜下对 5 个高倍视野内的炎性细胞数目进行计数, 并计算其平均值以评估炎症程度。具体评分标准如下: 0 表示未见炎性细胞; + 表示视野内细胞数目在 0~10 个之间; ++ 表示细胞数目在 11~20 个之间; +++ 则代表细胞数目超过 20 个。该评分方法有助于量化观察结果, 为炎症的评估提供标准化的数据。黏膜下腺体增生分为: 0 代表未见, + 代表偶见, ++ 代表多见, +++ 代表多见且有分泌物。

从组织切片余下的石蜡标本随机选取 3 例, 使用二甲苯进行脱蜡处理, 随后在 100% 丙酮溶液水化、1% 锇酸固定, 通过梯度乙醇进行脱水、环氧树脂包埋, 制作 60~80 nm 超薄切片, 染色后扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) (日立, 日本) 下观察细胞形态和纤毛数量。采集患者的囊泡液和静脉血样本 (5 mL) 进行成分分析。囊泡液采集过程如下: 采血管连接负压吸力器和双头穿刺针, 将穿刺针刺入患者鼻腔的单个囊泡中 (囊泡直径  $\geq 5$  mm), 负压吸引作用使囊泡液被吸引到采血管中。8 h 内采用全自动生化分析仪 (罗氏, 瑞士) 检测囊泡液和静脉血血清的葡萄糖、总蛋白、白蛋白、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、谷丙转氨酶 (alanine transaminase, ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平。1 例囊泡液标本因液量过少未出结果。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 22.0 软件。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。组织形态学分析采用非参数秩和检验, Mann-Whitney 方法检验  $P$  值。囊液成分采用独立样本  $t$  检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

262 例患者囊泡发生率为 25.2% (66/262)。45.5% 囊泡的形成发生在 FESS 术后 1 个月 (30/66), 71.2% 发生在 FESS 术后半年内 (47/66)。

66 例患者中有 20 例囊泡形成持续 3 个月以上。17 例囊泡复发病例中,流感复发或加重 4 例,合并哮喘 2 例。

### 2.2 囊泡黏膜病理结果

显微镜下实验组黏膜上皮表面无明显炎性渗出,上皮层见弥漫性炎细胞浸润(淋巴细胞为主),上皮细胞轻度水肿,少量细胞坏死,固有层炎细胞浸润,无明显血管扩张、充血(图 2)。对鼻腔囊泡黏膜进行组织病理学评分(表 1),结果显示与对照组相比,实验组上皮细胞病变和炎性细胞浸润程度增加,差异有统计学意义,而黏膜下腺体增生

无明显变化。

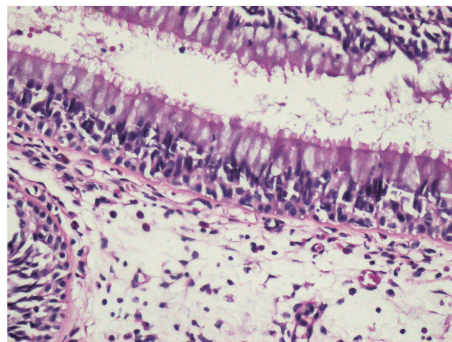


图 2 实验组黏膜上皮(×200)  
Figure 2 Mucosal epithelium in experimental group (×200)

表 1 鼻腔囊泡黏膜组织病理学评分  
Table 1 Nasal vesicle mucosal histopathological score

病理特征	实验组/例				对照组/例				Z	P
	0	+	++	+++	0	+	++	+++		
上皮细胞病变	0	1	3	6	0	2	7	1	-2.437	0.023
炎性细胞浸润	0	1	5	4	0	6	2	2	-2.297	0.029
黏膜下腺体增生	1	2	6	1	1	5	3	1	-0.538	0.631

### 2.3 SEM 图像结果

SEM 观察发现,与对照组相比,实验组上皮细胞肿胀严重,细胞间隙增大(图 3),纤毛数量减少或消失(图 4)。

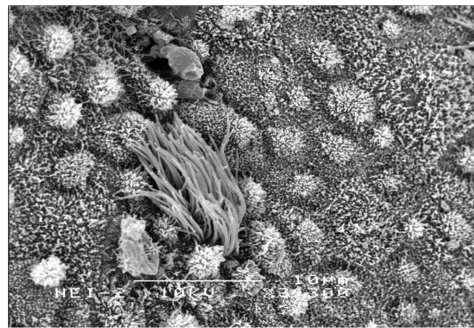
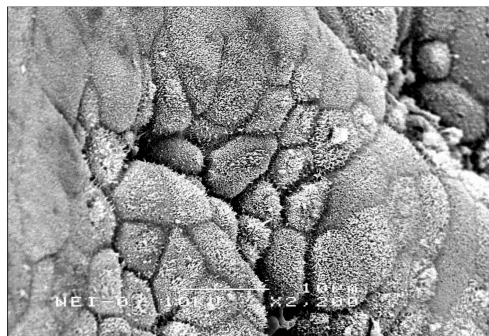


图 4 实验组黏膜上皮细胞的 SEM 图像  
Figure 4 SEM images of mucosal epithelial cells in experimental group

图 3 实验组上皮细胞的 SEM 图像  
Figure 3 SEM image of epithelial cells in the experimental group

### 2.4 囊泡液不同成分的含量

比较囊泡液和血清的成分,结果显示囊泡液中的 LDH 浓度约为血清中的 6 倍( $t = 5.107, P < 0.001$ ),ALT 明显升高( $t = 3.177, P < 0.001$ ),而 AST

( $t = -4.677, P < 0.001$ )和总蛋白( $t = -7.625, P = 0.001$ )均明显降低,葡萄糖和白蛋白水平在囊泡液和血清中差异无统计学意义( $t = -1.504, P = 0.180; t = -6.083, P = 0.139$ )。见表 2。囊泡液中的总蛋白浓度高于 25 g/L 且与血清总蛋白的比值  $> 0.5$ 。所有这些发现都与组织渗出液的特征相一致。

表 2 囊泡液不同成分的含量  
Table 2 Histomorphological analysis of vesicles

序号	囊泡液					
	葡萄糖/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	总蛋白/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	白蛋白/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	ALT/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	AST/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$
1	7.10	61	32	>1 000	76	45
2	5.91	65	34	>1 000	79	42
3	4.64	60	36	564	46	9
4	6.32	67	37	782	52	37
5	4.21	64	42	921	43	13
6	5.32	61	39	>1 000	64	41

续表

序号	囊泡液					
	葡萄糖/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	总蛋白/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	白蛋白/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$
7	5.74	59	37	>1 000	66	44
8	6.21	62	41	>1 000	72	51
9	7.14	64	34	581	51	62
$\bar{x}\pm s$	$5.84\pm 1.00$	$62.56\pm 2.60$	$36.89\pm 3.33$	$872.00\pm 184.38$	$61.00\pm 13.39$	$38.22\pm 17.04$
序号	血清					
	葡萄糖/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	总蛋白/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	白蛋白/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LDH/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	ALT/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$	AST/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$
1	6.90	76	48	155	34	83
2	6.87	79	46	147	31	80
3	6.12	81	45	132	33	78
4	5.91	73	39	157	30	91
5	6.46	65	46	149	27	65
6	7.09	78	38	123	29	76
7	6.32	74	25	164	27	88
8	6.78	69	41	152	34	67
9	5.48	72	47	182	32	71
$\bar{x}\pm s$	$6.44\pm 0.53$	$74.11\pm 5.06$	$41.67\pm 7.21$	$151.22\pm 17.13$	$30.78\pm 2.73$	$77.67\pm 8.94$

### 3 讨论

既往研究将 FESS 术后的鼻腔状态分为 3 个阶段<sup>[7]</sup>: 手术术腔清洁阶段、黏膜竞争阶段和完全上皮化阶段。黏膜竞争阶段可观察到黏膜水肿、囊泡、肉芽组织、小息肉、纤维增生等去黏膜反应,若术后无适当护理,本阶段可能出现粘连或再生疾病<sup>[8-9]</sup>。以上病变可通过黏膜上皮化得到缓解<sup>[10]</sup>。动物实验及临床观察证实每个阶段适当地局部护理和应用类固醇鼻喷剂对黏膜愈合是有益的<sup>[11-15]</sup>。但仍有部分患者出现囊泡复发,经鼻喷雾剂或口服类固醇治疗失败,原因尚不清楚<sup>[16-17]</sup>。另外有研究发现肥大细胞、T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域 3 的表达与术后黏膜上皮化和鼻息肉的复发相关<sup>[18]</sup>。已有研究观察到儿童慢性鼻窦炎以及真菌性鼻窦炎术后的康复过程也包括了上述 3 个阶段<sup>[19-20]</sup>。然而,这些研究主要局限于对术后临床现象的观察,没有深入探究囊泡的本质。本研究旨在进一步深入探讨这些现象,揭示囊泡的性质。

囊泡表现为一种圆形或椭圆形的黏膜下水疱,同时伴随上皮层的增生和黏膜固有层的淋巴细胞浸润<sup>[21]</sup>。它是组织损伤和细胞缺氧后引起的一种组织脱黏膜化反应。一方面,当局部组织发生严重的创伤(如手术刺激)时,血管内膜受损、栓塞形成,淋巴循环受损,毛细血管通透性增加,然后组织液渗漏,囊泡形成。另一方面,黏膜囊泡是拉力性水泡,有将坏死液从高压位置推到低压位置的作用<sup>[22]</sup>,失衡的应力也会促进囊泡的形成。因此,手术时对黏

膜的直接损伤,以及术后不均匀的鼻腔填塞物形成的不平衡应力,可能导致囊泡的形成。在术中小心保护黏膜,并在术后平衡鼻腔填塞材料的压力,可以有效预防囊泡的发生。

囊泡液中的 LDH、ALT 较血清增加差异具有统计学意义。LDH 是葡萄糖分解的末端酶,在缺氧的情况下催化丙酮酸还原为乳酸。由于组织中 LDH 酶的活性远高于血清,当组织轻微损伤时 LDH 酶明显升高<sup>[23]</sup>。ALT 一定程度上代表细胞的通透性功能<sup>[24]</sup>,囊泡液 ALT 增高表明囊泡中的细胞通透性增加,提示组织损伤和细胞缺氧是囊泡形成的病理基础。在我们的研究中,囊泡液中的 AST 水平没有增高反而相对血清降低。AST 存在于线粒体中,可反映细胞的功能状态,除非细胞严重受损,细胞外液体中的 AST 不会明显升高<sup>[25]</sup>,该结果支持了鼻黏膜上皮细胞水肿是可逆的,且当环境恢复平衡时理论上有可能恢复的可能。因此,临床上不提倡在内镜下清除囊泡,以减少鼻腔黏膜瘢痕愈合的机会。基于以上的研究,我们建议在随访清理术腔时仅当囊泡阻塞术腔引流时才做部分清除,适当保留一部分囊泡膜,而不是清除所有的囊泡。囊泡液可以充分引流,而囊泡膜可作为一种生物敷料保护伤口,有利于局部细胞的生长和伤口愈合,以上对囊泡的处理方式仍然需要临床判断来进行评估。

另外,我们观察到在 17 例囊泡复发的病例中,有 4 例同时患有流感,还有 2 例同时患有哮喘。这表明囊泡的形成机制可能不仅仅是由手术对黏膜的直接损伤引起的炎症反应,还可能与愈合期间的病

毒或细菌感染,以及上呼吸道免疫疾病如哮喘等系统因素有关。

尽管研究的样本量符合统计学要求,但由于样本量较小,可能存在样本选择偏差或偶然误差。另外,我们的研究仅获得术后短期内鼻黏膜囊泡的形成和特征,缺少长期随访和观察的组织病理学证据,无法了解鼻黏膜囊泡演变的全过程。鼻息肉形成的初始阶段表现为血管渗出物增加、固有层水肿和鼻黏膜膨出<sup>[26]</sup>,其与囊泡在组织病理学上有一定的相似。临床也观察到大部分囊泡可以消退,但部分患者,尤其是伴有系统因素的患者,囊泡可以逐渐形成息肉,因此,囊泡是否为鼻息肉的初始形态或彼此间的关系需要今后深入研究。

我们的研究表明,FESS 术后鼻黏膜囊泡的形成是手术后术腔常见的现象;含有大量 LDH 及 ALT 增高的囊泡液提示囊泡为手术创伤反应。囊泡的形成可能会影响患者的恢复和治疗反应,因此在手术中应尽量保护黏膜,减少组织损伤。对不影响术后通气引流的囊泡不需要处理,同时强化随访药物综合治疗和鼻腔清洗护理,对促进黏膜恢复或上皮化,提高 FESS 疗效具有重要意义。

## 参考文献:

[1] Govindaraj S, Adappa ND, Kennedy DW. Endoscopic sinus surgery: evolution and technical innovations[J]. *J Laryngol Otol*, 2010, 124(3): 242-250. doi: 10.1017/S0022215109991368

[2] Lanza DC, Kennedy DW. Adult rhinosinusitis defined[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1997, 117(3 Pt 2): S1-S7. doi: 10.1016/S0194-59989770001-9

[3] Li HB, Shi JB, Xu G. Comment on the European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012[J]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2012, 47(10): 877-879

[4] Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists [J]. *Rhinology*, 2012, 50(1): 1-12. doi: 10.4193/Rhino12.000

[5] 于睿莉. 鼻窦术后黏膜组织形态学和生理功能变化及其临床意义[D]. 长春: 吉林大学, 2004

[6] Kim DH, Hong YK, Jeun SS, et al. Is coincidental rhinosinusitis a predisposing factor for postoperative central nervous system infection after endoscopic endonasal transsphenoidal surgery [J]. *J Craniofac Surg*, 2018, 29(3): e319-e322. doi: 10.1097/SCS.0000000000004443

[7] Xu G, Jiang HY, Li HB, et al. Stages of nasal mucosal transitional course after functional endoscopic sinus surgery

and their clinical indications [J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2008, 70(2): 118-123. doi: 10.1159/000114535

[8] Liu B, Huang XM, Xia LN, et al. Effects of Yupingfeng nasal drops on serum cytokines, histopathology and eosinophil cationic protein in nasal mucosa of rats with allergic rhinitis[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2021, 34(4): 1351-1358

[9] Khatri H, Salati H, Wong E, et al. Modelling the effects of post-FESS middle turbinate synechiae on sinonasal physiology: a computational fluid dynamics study [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2023; S0385-8146(23)00087. doi: 10.1016/j.anl.2023.04.003

[10] Topuz MF, Sar M, Binnetoglu A, et al. Is endoscopic endonasal transsphenoidal surgery increases the susceptibility to rhinosinusitis [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2017, 274(8): 3065-3069. doi: 10.1007/s00405-017-4598-4

[11] 曲静, 马晶影, 周兵, 等. 浸润激素纳吸棉鼻腔术后填塞效果的前瞻性单盲随机对照临床研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2020, 34(6): 541-545. doi: 10.13201/j.issn.2096-7993.2020.06.015

QU Jing, MA Jingying, ZHOU Bing, et al. Efficacy and safety of pulmicort repulas-impregnated nasal dressing following endoscopic sinus surgery: a randomized, single-blind, placebo-controlled study [J]. *China Industrial Economics*, 2020, 34(6): 541-545. doi: 10.13201/j.issn.2096-7993.2020.06.015

[12] 陈世琴, 卫平存, 胡云龙, 等. 糖皮质激素三种不同鼻用法对鼻内镜术后黏膜转归的影响 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36(3): 195-201. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0. 2020.477

CHEN Shiqin, WEI Pingcun, HU Yunlong, et al. Effects of three different nasal uses of glucocorticoid on mucosal outcome after endoscopic sinus surgery [J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2022, 36(3): 195-201. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0. 2020.477

[13] Ditha BA, Sutikno B. Extraction of sphenchoanal polyp with functional endoscopic sinus surgery approach: a rare case and review article [J]. *Int J Surg Case Rep*, 2022, 97: 107429. doi: 10.1016/j.ijscr.2022.107429

[14] Casale M, Pace A, Moffa A, et al. Post-operative nebulized sodium hyaluronate versus spray after functional endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2017, 31(4 Suppl 2): 81-89

[15] Khalmuratova R, Kim DW, Jeon SY. Effect of dexamethasone on wound healing of the septal mucosa in the rat [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(3): 112-116. doi: 10.2500/ajra.2011.25.3595