

AGRESSZIÓ ÉS STRESSZ: OKOK ÉS MECHANIZMUSOK

Haller József

tudományos főmunkatárs, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet – haller@koki.hu

Halász József

tudományos munkatárs, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

Mikics Éva

PhD-hallgató, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

*Abnormális agresszió:
biológiai vagy pszichológiai kérdés?*

Az agresszivitás mint a fajon belüli kompetíció magatartási eszköze és minden magasabb rendű állatfaj magatartási repertoárjának része, önmagában természetesen nem tekinthető abnormálisnak, bár az emberi társadalom, amely alapvetően kooperációra épül, sokat szenved normálisnak tekinthető formáitól is. Még több gondot okoznak azonban az agresszió abnormális formái. A pszichológiai irodalom (például a DSM-IV) több olyan rendellenességet is számon tart, amelynek lényege az agresszivitás. Ilyenek az antiszociális személyiségzavar (antisocial personality disorder), a váltakozó expozív zavar (intermittent explosive disorder), „életvezetési zavar” (conduct disorder), az ellenkező-kihívó magatartás (oppositional-defiant disorder) és a bomlasztó magatartás-zavar (disruptive behavior disorder). Ezekén kívül számos olyan rendellenesség van, amelyben az agresszió fontos komponens. Ilyen például a poszt-traumatikus stressz rendellenesség, a skizofrénia, a depresszió mániás szakasza, stb. A releváns rendellenességek pontos kategorizálása objektíválja az agresszióformák minősítését, pontosab-

ban: egy ilyen forma azonosítása nem szubjektivebb, mint a depresszió vagy szorongás valamely formájának azonosítása.

Az agresszió determináltsága kettős: társadalmi és biológiai. Mint az erőforrásokért való versengés eszköze, természetesen nem választható el a szociális tényezőktől, ugyanakkor viszonylag jól ismert anatómiai, ideg-életani és hormonális jelenségek állnak a háttérben. Bizonyos mértékig és bizonyos körökben vitatott, hogy melyik faktornak mekkora jelentősége van. Szélsőségessé formálva az álláspontokat (amelyek ritkán, de megjelennek ilyen fókú szélsőségeként is), két lehetőséggel állunk szemben: (1) Az agresszió (mint minden más jelenségnek az éhségtől a verejtékezésig) megvannak a biológiai alapjai, de ezek a biológiai jelenségek csak levezénylik a magatartást, és nem határozzák meg, hogy mikor jelenjen meg és milyen erős legyen. (2) Az agressziót ugyan pszichikai vagy társadalmi konfliktusok idézik elő, de a konfliktusok sokféleképpen feloldhatók, és tisztán biológiai tényezők határozzák meg azt, hogy egy adott pillanatban a válasz agresszív vagy más módon legyen. Attól függően, hogy melyik álláspontot fogadjuk el, az agresszivitás biológiai alapjait tekintjük központi vagy járulékos kérdésnek.

Számos konkrét bizonyíték van arra, hogy az agresszió társadalmi és biológiai tényezői szorosan összefonódnak. Ezek részletes tárgyalására itt nincs hely, de egy konkluzív példát kiemelünk. Közismert, hogy rossz körülmények között felnövő és bántalmazott gyerekekből agresszív felnőtt lesz. Van azonban egy probléma: az agresszív felnőttek zömét valóban bántalmazták gyerekkorukban, de nem *minden* bántalmazott gyerekből lesz agresszív felnőtt, sőt többségükben nem lesz az. Az ellentmondást korábban azzal magyarázták, hogy egy gyereket sokféle bántalom érhet (fizikai bántás, megszegényítés, szeretethiány), és hosszú távú hatásokkal csak akkor kell számolni, ha ezek halmozottan jelennek meg. Egy közelmúltban megjelent tanulmány azonban arra utal, hogy a megoldás a (noradrenalin bontó) monoamino oxidáz A (MAO_A) génjének polimorfizmusában keresendő (Caspí et al, 2002). Bebizonyosodott, hogy csak azokból a bántalmazott gyerekekből lesz agresszív felnőtt, akiknek MAO_A aktivitása genetikai okokra visszavezethetően alacsony, ezért noradrenerg rendszernek aktivitása magas. A MAO_A-t és a noradrenerg rendszert már korábban is összefüggésbe hozták az emberi és állati agresszivitással, de nem hozták összefüggésbe társadalmi tényezőkkel. Ez a példa kitűnően illusztrálja, hogy az agresszió társadalmi és biológiai tényezői szorosan kapcsolódnak egymáshoz, és hogy a biológiai jelenségeknek komoly társadalmi hatásai vannak.

Glukokortikoidok és abnormális agresszió

A stressz és agresszió között közismerten szoros kapcsolat van, a kapcsolat természete azonban a hormonhatás időtartamától függ. A glukokortikoid szekréció természetes akut (napszakos és ultradiális ingadozás által kiváltott) emelkedése fokozza az agresszivitást (ez glukokortikoid receptor blokkolókkal vagy szintézisgátlókkal kivédhető; Haller et

al., 2000); és akut glukokortikoid kezelésekkel az agresszivitás jelentős mértékben fokozható (Brain – Haug, 1992). A glukokortikoidok krónikus túltermelése ezzel szemben gátolja az agressziót (Politch – Leshner, 1977).

Az akut és krónikus hatások közötti ellentét nem meglepő, ha figyelembe vesszük az állat állapotának különbségeit az akut és krónikus helyzetben, valamint a glukokortikoidok hatásmechanizmusainak sokféleségét és időfüggését. Az akut stressz idején az állatnak (vagy embernek) minden reménye megvan arra, hogy megszabaduljon a kellemetlen tényezőtől. Ilyen helyzetben tehát az aktivitás fokozása előnyös. A krónikus stresszállapot viszont azért alakul ki, mert az egyén hosszabb idő alatt sem tudott megszabadulni a stressz-faktortól, így ez nem valószínű a jövőben sem. Ilyen helyzetben a túlélés elősegítése, a kockázatok és energia-vesztés megküldése előnyös (Makara – Haller, 2001). E megfontolások alapján az akut glukokortikoid stresszreakció agresszivitás-fokozó és a krónikus reakció agresszivitás-gátló hatása egyaránt funkcionálisnak tűnik. A mechanizmusok irányából megközelítve a kérdést, megállapíthatjuk, hogy a glukokortikoidoknak szerteágazó genomiális és nem-genomiális idegi hatásai vannak, amelyek érvényesülési ideje (és időtartama) a perces nagyságrendtől a hetes nagyságrendig terjed (Makara – Haller, 2001). E mechanizmusok révén – megfelelő felső szabályozás mellett, illetve azt közvetítve –, a glukokortikoidok technikailag is alkalmasak arra, hogy hozzájáruljanak ennek a komplex jelenségkörnek (az akut és krónikus stresszválasz által kiváltott magatartási adaptációnak) szabályozásához. Bár az agresszió és a glukokortikoidok kapcsolatának még számos tisztázatlan aspektusa van, a bifázikus hatás alapkérdéseinek leírásával úgy tűnt, hogy a glukokortikoidok agressziós hatásainak lényegi kérdései ismertté váltak. Ez azonban korántsem volt így.

Virkunnen és munkatársai 1985-ben érdekes megfigyelést tettek köztörvényes bűnözőkön végzett kísérleteik során: az antiszociális személyiség-rendellenességgel diagnosztizált agresszív bűnözőknél konzisztensen *alacsony* glukokortikoid-szinteket mértek mind a börtön személyzettel, mind a pszichikai rendellenességet nem mutató agresszív bűnözőkkel összehasonlítva. A felfedezés pillanatában ez a felismerés nem találta meg helyét a tudományos köztudatban, talán azért nem, mert a glukokortikoidok *elég telenségének* káros következményeit akkoriban még nem látták olyan világosan, mint ma (Heim et al., 2000). Az évek során azonban hasonló összefüggést több más pszichikai rendellenesség esetében is kimutattak, felnőtteknél, gyerekeknél, férfiaknál és nőknél egyaránt (Pajer et al., 2001). A feltárt esetekben a pszichikailag rendellenes (antiszociális személyiségzavar, ellenkező-kihívó magatartás) páciensek agresszivitása annál magasabb volt, minél kisebb volt vérplazmájuk glukokortikoid tartalma, és minél kisebb volt stressz-reaktivitásuk. Ez az összefüggés nem korlátozódott emberi alanyokra, mert a kutyamenhelyen mért *alacsony* glukokortikoid-szint jól jelezte előre magatartási problémák megjelenését az illető kutyák örökbe fogadása után (Hennessy et al., 2001). Mindezek a megfigyelések sejteni engedték, hogy az *alacsony* glukokortikoid-termelés és az agressziós problémák között összefüggés van, de nem bizonyították, mert az említett tanulmányok puszta korreláción alapultak. Az okozati összefüggések felderítésére tehát kísérletes vizsgálatokra volt szükség.

A glukokortikoidok elég telensége abnormális agressziót indukál

A glukokortikoid hipofunkció létrehozása végett kísérleti állataink mellékveséjét eltávolítottuk, és bőrük alá glukokortikoid tablettákat helyeztünk (glukokortikoid pótlásos ADX, ADXr) (Haller et al., 2001). A tab-

lettákra azért volt szükség, mert a pótlás nélküli mellékveseirtás a hippocampus egyes területein neuronpusztulást okoz. Ez a kísérleti eljárás jól modellezi a humán pácienseknél megfigyelt glukokortikoid hipofunkciót, mert mind az alapszintre, mint a stresszválaszra kihat. A „*hagyományos*” magatartás-elemzés nem mutatott ki nagy eltérést a kontroll és az ADXr állatok magatartása között, egyedül a fenyegetések időtartama csökkent, ami önmagában semmiképpen sem tekinthető abnormálisnak. Az állatok magatartásának rutinszerű, széles körben alkalmazott eljárásával tehát nem léptünk közelebb a probléma feltáráshoz. Egy magatartásnak (jelen esetben az agresszióknak) azonban számos olyan körülménye van, amelyet egy részletes etológiai elemzésnél tanácsos figyelembe venni. A nyolcvanas évek elején a szokásosnál részletesebb elemzésnek vetették alá az állatok támadási mintázatát, és megállapították, hogy ez a mintázat erőteljesen függ a körülményektől. Rezidensek (saját területen, betolakodóval küzdő állatok) harapásai zömét (több mint 90 %-át) az ellenfél kevésbé sérülékeny testrészeire (hátra és oldalakra) irányították (Blanchard – Blanchard, 1981). A betolakodók azonban, különösen, ha náluk lényegesen nagyobb hímek kolóniájába kerültek, ahol életük is veszélyben forgott, már másképpen cselekedtek, és elsősorban ellenfeleik sérülékeny testfelületeit (fej, torok, has) támadták. Ez a felismerés, és a támadások mintázatának részletesebb elemzése nem vált gyakorlattá, de nekünk nagy segítségünkre volt a mellékveseirtás következményeinek azonosításánál. Az ADXr állatoknál ugyanis a kontrollokhoz képest mintegy tízszeresére nőtt a veszélyes testfelületekre (fej, torok, has) irányított támadások aránya, annak ellenére, hogy saját területen küzdöttek, náluk kisebb ellenfelekkel (1. ábra).

Ezt a jelenséget már eléggé súlyos elváltozásnak tekinthetjük ahhoz, hogy a maga-

| Műtét | Várakozás | Akut kezelés | Agresszív kontaktus |
|---------|-----------------|----------------|---------------------|
| ShnH | álműtét | | |
| ADXnH | mellékveseirtás | kontroll | nincs |
| ADXnH+B | hormonpótlással | kortikoszteron | |
| ShH | álműtét | | |
| ADXH | mellékveseirtás | kontroll | 20 perc |
| ADXH+B | hormonpótlással | kortikoszteron | |

Betűkód: Sh= áloperált; n= nem; H= harcoló; ADX= mellékveseirtás alacsony szintű krónikus glukokortikoid-pótlással; +B= akut kortikoszteron-kezelés (0.5 mg/kg kortikoszteron-HBC komplex, 10 perccel a kontaktus előtt; kontroll-injekció: HBC komplex).

1. táblázat • A glukokortikoid hipofunkció vizsgálatának kísérleti terve

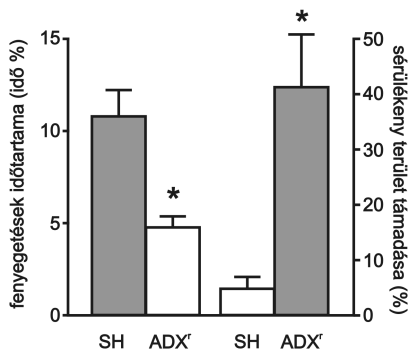
tartást abnormálisnak tartjuk. Ebben az összefüggésben a fenyegetések időtartamának csökkenése is új jelentőséget nyer, hiszen az ADXr állatok úgy támadtak veszélyes testfelületeket, hogy szándékaikat nem jelezték előre (a fenyegetések funkciója a támadási szándék jelzése, ami lehetővé teszi az ellenfél számára a visszahúzódást). Összefoglalva tehát, egy hormonális rendellenesség, amely emberekkel összefüggött az abnormális agresszióval, hasonlóan abnormális agressziót hozott létre kísérleti állatainkban. Megállapíthatjuk tehát, hogy a glukokortikoid hipofunkció és az abnormális agresszió közötti összefüggés ok-okozatának tűnik.

Abnormális agresszió és szorongás

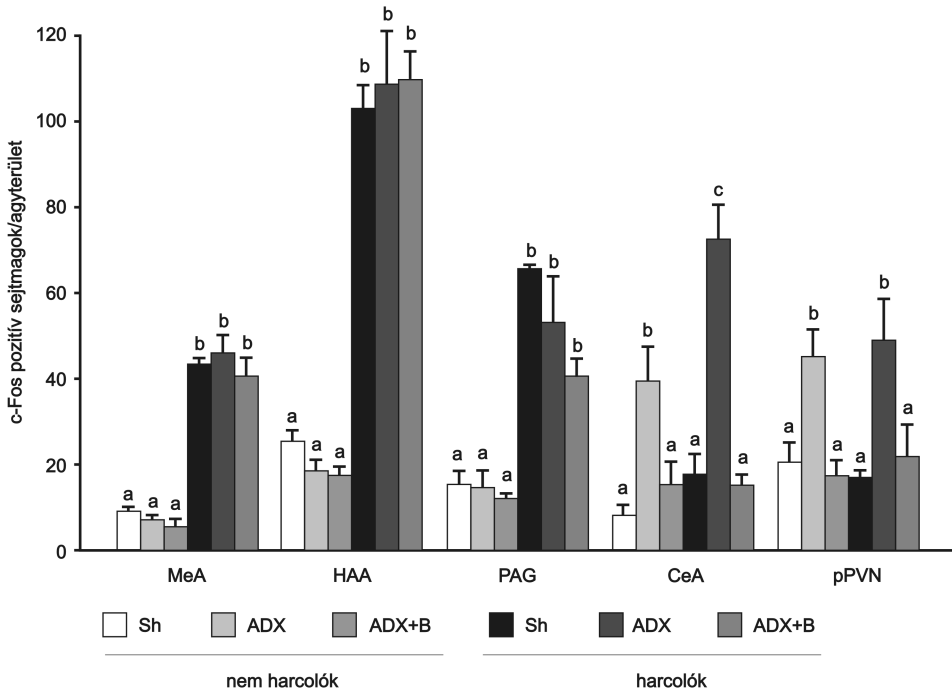
A glukokortikoid hipofunkció alapvetően megváltoztatta az agresszív magatartás jellegét, ezért feltehető volt, hogy a hormonhiány az agresszió szabályozásában szerepet játszó idegközpontok aktivitását is megváltoztatta. Ezt a jelenséget rezidens állatokban c-Fos immuncitokémiával kívántuk felderíteni. Hat csoportot vizsgáltunk egymással párhuzamosan (Halász et al., 2002). Három csoportot nem vetettünk alá agresszió-tesztnak, de áloperációnak, mellékveseirtásnak (ADXr), illetve mellékveseirtásnak és akut kortikoszteron-injekciónak igen. A másik három csoport ugyanilyen hormon-manipu-

lációkon esett át, de húsz percre egy náluk jelentősen kisebb ellenfelet helyeztünk ketrecükbe. A kísérleti eljárást és a csoportokat az 1. táblázatszemlélteti.

A harcoló csoportoknál a korábbi magatartási különbséget ezúttal is észleltük: az ADXr állatok támadásaik zömét (mintegy 70-80 %-át) az ellenfél veszélyes testfelületeire irányították, míg ugyanez az érték a kontrolloknál 8 % alatt volt. A harcoló és nemharcoló csoportok c-Fos aktivációja éles eltérést mutatott: az utóbbiaknál az aktiváció mértéke (agyterülettől függően) 5-10-szer erősebb volt.



1. ábra • A glukokortikoid hipofunkció hatása az agresszív magatartásra. A fenyegetések időtartama felére csökkent, míg a veszélyes testfelületekre adott támadások százalékos aránya csaknem tízszeresére nőtt.



2. ábra • Hormonkezelések hatása az agyi c-Fos fehérje expressziójára. Az utóbbit a neuronális aktiváció markerének tekintik. MeA= mediális amygdala; HAA= hypothalamikus támadási központ; PAG= centrális szürkeállomány; pPVN= n. paraventricularis hypothalami pars parvocellularis; CeA= centrális amygdala; Sh= áloperált; ADX= mellékveseitott, +B= akut módon kortikoszteronnal kezelt. A MeA, HAA és PAG közismerten szerepet játszanak az agresszivitás szabályozásában, a pPVN a kortikoszteron-termelés szabályozásában, míg a CeA a szorongás szabályozásában játszik szerepet. Az agresszív magatartás szabályozásában szerepet játszó idegközpontok aktivációját az ADX nem változtatta meg, az agresszió viszont jelentősen megnövelte a CeA aktivációját az ADX állatoknál.

A nemharcolóknál egyik hormonmanipuláció sem váltott ki jelentős hatást. A harcolóknál – meglepetésünkre – az agresszivitás szabályozásában szerepet játszó idegközpontok aktivációja egyik hormonmanipuláció hatására sem változott meg. Bár némi különbség észlelhető volt, ezek egyike sem volt szignifikáns, és egyik különbség sem volt akkora, hogy tüzetesebb vizsgálatot tett volna szükségessé. Lényeges eltérést tapasztaltunk azonban a stressz (nucleus paraventricularis hypothalami, pars parvocellularis; pPVN), illetve a félelem (centrális amygdala, CeA) szab-

lyozásában szerepet játszó idegközpontok c-Fos aktivációjában. A pPVN aktivációja verekedés nélkül is megerősödött az ADX hatására, a CeA aktivációja azonban a verekedőknél több mint kétszer erősebb volt a nem verekedőkhöz képest. Az akut kortikoszteron-kezelés az ADX minden hatását törölte. Úgy tűnik tehát, hogy az ADX nem befolyásolja az agresszivitás korábban ismert és nyilvántartott központjait, ellenben fokozza a félelemben szerepet játszó centrális amygdala-aktivációt.

Mivel a c-Fos tanulmány a félelem esetleges szerepére utalt, két szorongás-tesztben

megvizsgáltuk a glukokortikoid hipofunkció hatását a szorongásra: a szociális komponenseket nem tartalmazó megemelt keresztpalló (elevated plus-maze) és a szociális interakció tesztben. Az idegéletani eredményeinkkel összhangban, az ADXR valóban szorongást váltott ki a kísérleti állatokban, de ez csak a szociális interakció tesztben volt nyilvánvaló; a szociális komponens nem tartalmazó megemelt keresztpalló tesztben az ADXR állatok a kontrollhoz hasonlóan viselkedtek. Úgy tűnik tehát, hogy a hormonális rendellenességgel együtt járó szorongás szociális jellegű.

Kezdetben feltételeztük, hogy a szorongás az abnormális agresszió kialakulásának egyik okozója lehet. Ezt a feltételezést alátámasztotta, hogy a megfigyelt agressziós mintázathoz hasonló életveszélyben forgó állatoknál mutattak ki. Logikusnak tűnt, hogy egy szorongással járó abnormális agresszióforma megnyilvánulását egy szorongásgátló legalábbis enyhíteni tudná, ezért megvizsgáltuk egy szorongásgátló (buspiron) hatását abnormális agressziós modellünkben. Meglepetésünkre azonban előkísérleteink azt mutatják, hogy a buspiron nemhogy enyhítette volna, de súlyosbította a problémát. A veszélyes területre adott harapások számát ugyan nem befolyásolta, szignifikánsan megnövelte azonban a harapások számát (ami, tekintve, hogy az arány nem változott, a veszélyes területre adott támadások abszolút számának növekedését jelentette). Bár a jelenséget kétségtelenül tovább kell még vizsgálni, ez az eredmény azt sugallja, hogy a szorongás nem előidézi, hanem vélhetően féken tartja az ADXR állatok agresszivitását.

Következtetések helyett

Az agressziókutatás jelenleg két vonalon halad, amelyek meglehetősen élesen elválnak egymástól. A pszichológiai/pszichiátriai kutatás azokat a társadalmi/pszichikai összefüg-

géseket vizsgálja, amelyek az agresszió fokozódását okozzák, a laboratóriumi kutatás a genetikai, idegi és endokrinológiai összefüggésekre koncentrálnak. Sok más területen – például a szorongás, depresszió, skizofrénia, stb. vizsgálatában – a humán és laboratóriumi kutatás szoros kapcsolatban van, és egymást segítve fejlődik. Ez csak korlátozott mértékben igaz az agressziókutatásra. Ennek a hiányosságnak számos oka van. Az egyik, és talán legfontosabb, hogy a nem kívánt agresszivitás elleni gyógyszerek kutatása megközelítőleg sem folyik olyan intenzitással, mint más pszichikai rendellenességek esetében, így az agresszió pszichológiai/pszichiátriai kutatásának sokkal kevésbé van szüksége laboratóriumi modellek figyelemmel kísérésére, mint más pszichikai rendellenességek esetében. Ez természetesen nem vezet a két kutatási irány közötti kapcsolatok teljes megszűnéséhez, és az információk, ha lassan is, de átszivárognak a másik oldalra. Nem tagadható ugyanakkor, hogy az információcserét a laboratóriumi kutatások hiányosságai is gátolják. A laboratóriumi agressziókutatás szinte kizárólag a normálisnak tekinthető agresszivitás vizsgálatára koncentrálnak, abból a feltételezésből kiindulva, hogy a rendellenes formák szabályozási mechanizmusai megegyeznek a normális agresszió mechanizmusáival, csak az arányok tolnak el. Glukokortikoid hipofunkcióval kapcsolatos kutatásaink azon nagyon kevés laboratóriumi modellek egyikének kialakulásához vezettek (az agyi léziók hatásainak kutatása mellett), amelyek az abnormális agresszióformák vizsgálatát teszik lehetővé, és amelyek arra utalnak, hogy a normális és abnormális agresszió szabályozása között lehetségesek eltérések. Ez a tény az, amely az ilyen jellegű kutatásokat jelentőssé teszi. Vizsgálatainkban egy humán összefüggésből indultunk ki, és megállapítottuk, hogy (1) az endokrin rendellenesség, amely embereknél abnormális agresszióval együtt jelentkezik,

abnormális agressziót idéző állapotokban; (2) az agresszivitásban fellelhető rendellenesség, akárcsak az emberben, szorongással társul. Ezzel, úgy érezzük, bizonyítékot találtunk arra, hogy a glukokortikoid hipofunkció és abnormális agresszió között ok-okozati összefüggés van. Új felismerésnek tekinthető, hogy az endokrin rendellenesség által előidézett szorongás fékezőleg hat az ugyanazon endokrin rendellenesség által előidézett agresszivitásra. Ezt a felismerésünket természetesen további

kísérletekkel kell megerősítenünk. A modell azonban – ettől a felismeréstől függetlenül, alkalmasnak látszik egy olyan abnormális agresszióforma szabályozási mechanizmusainak tanulmányozására, amelynek nyilvánvaló humán párhuzamai vannak.

Kulcsszavak: *agresszió, magatartás, állatok, ember, patkány, pszichikai zavarok, stressz, glukokortikoidok, támadási célpont, fenyegetés*

IRODALOM

- Blanchard Robert J. – Blanchard, D. Caroline (1981): The Organization and Modeling of Animal Aggression. In: Brain, Paul F. – Benton, David (eds.) *The Biology of Aggression*. Sijthoff et Noordhoff, Alphen aan den Rijn (The Netherlands). 529-563.
- Brain, Paul F. – Haug, Marc (1992): Hormonal and Neurochemical Correlates of Various Forms of Animal "Aggression". *Psychoneuroendocrinology*. **17**, **6**, 37-551.
- Caspi, Avshalom – McClay, J. – Moffitt, T. E. – Mill, J. – Martin, J. – Craig, I. W. – Taylor, A. – Poulton, R. (2002): Role of Genotype in the Cycle of Violence in Maltreated Children. *Science* **297**, 851-854.
- Halász József – Liposits Zs. – Kruk, M. R. – Haller J. (2002): Neural Background of Glucocorticoid Dysfunction-induced Abnormal Aggression in Rats: Involvement of Fear- and Stress-related Structures. *European Journal of Neuroscience*. **15**, **3**, 561-569.
- Haller József – Halász J. – Mikics É. – Kruk, M. R. – Makara G. B. (2000): Ultradian Corticosterone Rhythm and the Propensity to Behave Aggressively in Male Rats. *Journal of Neuroendocrinology*. **12**, 937-941.
- Haller József – Van De Schraaf, J. – Kruk, Menno R. (2001): Deviant Forms of Aggression in Glucocorticoid Hyporeactive Rats: A Model for 'Pathological' Aggression? *Journal of Neuroendocrinology*. **13**, 102-107.
- Heim, Christine Marcelle – Ehler, Ulrike – Hellhammer, Dirk H. (2000): The Potential Role of Hypocortisolism in the Pathophysiology of Stress-related Bodily Disorders. *Psychoneuroendocrinology*. **25**, 1-35.
- Hennessy, Michael B. – Voith, V. L. – Mazzei, S. J. – Buttram, J. – Miller, D. D. – Linden F. (2001): Behavior and Cortisol Levels of Dogs in a Public Animal Shelter, and an Exploration of the Ability of these Measures to Predict Problem Behavior after Adoption. *Applied Animal Behaviour Science*. **73**, 217-233.
- Makara B. Gábor – Haller József (2001): Non-genomic Effects of Glucocorticoids in the Neural System. Evidence, Mechanisms and Implications. *Progress in Neurobiology*. **65**, 367-390.
- Pajer, Kathleen – Gardner, W. – Rubin, R. T. – Perel, J. – Neal, S. (2001): Decreased Cortisol Levels in Adolescent Girls with Conduct Disorder. *Archives of General Psychiatry*. **58**, **3**, 297-302.
- Politch, J. A. – Leshner, Alan I. (1977): Relationship between Plasma Corticosterone Levels and Levels of Aggressiveness in Mice. *Physiology and Behavior*. **19**, 775-780.
- Virkkunen, Matti (1985): Urinary Free Cortisol Secretion in Habitually Violent Offenders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. **72**, 40-44.