

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.22.008  
文章编号: 1005-8982 (2022) 22-0038-06

超声专题·论著

## 实时三维超声心动图联合 microRNA-499 水平检测对心力衰竭的诊断价值\*

马建英<sup>1</sup>, 王炜璐<sup>2</sup>, 解春霞<sup>1</sup>, 周志强<sup>3</sup>

[青岛市中医医院(青岛市海慈医院) 1. 心血管内科, 2. 功能检查科, 山东 青岛 266033,  
3. 青岛大学附属心血管病医院 心血管内科, 山东 青岛 266071]

**摘要: 目的** 探讨实时三维超声心动图(RT-3DE)联合 miR-499 水平检测对心力衰竭的诊断价值。  
**方法** 选取2018年1月—2021年12月就诊于青岛市中医医院的110例心力衰竭患者作为心衰组, 另选同期该院健康体检者60例作为对照组。通过RT-3DE测定心功能指标 [左室收缩末期容积(LVESV)、左室舒张末期容积(LVEDV)、左室射血分数(LVEF)、左室16节段达到收缩末期最小容积的标准差(Tmsv16-SD%)、最大差值(Tmsv16-Dif%)], 采用实时荧光定量聚合酶链反应测定血清miR-499相对表达量。比较两组RT-3DE检查参数与miR-499相对表达量, Pearson法分析RT-3DE检查参数与miR-499相对表达量的相关性, 受试者工作特征(ROC)曲线分析RT-3DE参数、血清miR-499相对表达量及联合诊断对心衰的诊断效能。**结果** 两组性别、体质量指数、心率、收缩压、舒张压比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。心衰组LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD%及血清miR-499相对表达量高于对照组, LVEF低于对照组( $P < 0.05$ )。Pearson相关性分析显示, 心衰患者血清miR-499相对表达量与LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD%均呈正相关( $r = 0.373, 0.347, 0.228$  和  $0.395$ , 均  $P < 0.05$ ), 与LVEF呈负相关( $r = -0.341, P < 0.05$ )。ROC曲线显示, 联合诊断的AUC、敏感性、特异性最高, 分别为0.932(95% CI: 0.912, 0.984)、0.855(95% CI: 0.796, 0.908)、0.832(95% CI: 0.763, 0.896)。**结论** 心衰患者血清miR-499水平呈高表达, 与RT-3DE参数密切相关, 且两者联合对心衰有良好的诊断价值。

**关键词:** 心力衰竭; 实时三维超声心动图; miR-499; 心功能

**中图分类号:** R541.61

**文献标识码:** A

## Diagnostic value of real-time three-dimensional echocardiography combined with miR-499 level for heart failure\*

Jian-ying Ma<sup>1</sup>, Wei-lu Wang<sup>2</sup>, Chun-xia Xie<sup>1</sup>, Zhi-qiang Zhou<sup>3</sup>

[1. Department of Cardiology, 2. Department of Function Test, Qingdao Hospital of Traditional Chinese Medicine (Qingdao Hiser Hospital), Qingdao, Shandong 266033, China; 3. Department of Cardiology, The Affiliated Cardiovascular Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China]

**Abstract: Objective** To analyze the diagnostic value of real-time three-dimensional echocardiography (RT-3DE) combined with miR-499 level in patients with heart failure. **Methods** A total of 110 patients with heart failure treated in Qingdao Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2018 to December 2021 were selected as the heart failure group, and 60 healthy people undergoing health checkup in the hospital during the same period were selected as the control group. Cardiac function parameters, including left ventricular end systolic volume (LVESV),

收稿日期: 2022-06-16

\* 基金项目: 山东省中医药科技项目(No: 2021M165)

[通信作者] 周志强, E-mail: zqiangzhiz@163.com

left ventricular end diastolic volume (LVEDV), left ventricular ejection fraction (LVEF), and standard deviation (Tmsv16-SD%) and maximum difference (Tmsv16-Dif%) of the time to the minimal systolic volume of the 16 left ventricular segments, were measured by RT-3DE. The serum level of miR-499 was measured by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The cardiac function parameters measured via RT-3DE and the serum level of miR-499 were compared between the two groups. The correlations between cardiac function parameters and the miR-499 level were analyzed by Pearson method. The diagnostic efficacy of cardiac function parameters measured via RT-3DE, the serum level of miR-499, and their combination for heart failure was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** There was no difference in the gender composition, body mass index, heart rate, systolic pressure, or diastolic pressure between the two groups ( $P > 0.05$ ). The LVEDV, LVESV, Tmsv16-Dif%, Tmsv16-SD% and the serum level of miR-499 in the heart failure group were higher than those in the control group, while LVEF in the heart failure group was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the serum level of miR-499 was positively correlated with LVEDV ( $r = 0.373$ ), LVESV ( $r = 0.347$ ), Tmsv16-Dif% ( $r = 0.228$ ), and Tmsv16-SD% ( $r = 0.395$ ) (all  $P < 0.05$ ), but was negatively correlated with LVEF ( $r = -0.341$ ) in patients with heart failure ( $P < 0.05$ ). The ROC curve analysis exhibited that the area under the ROC curve (AUC), sensitivity and specificity of the combination of cardiac function parameters measured via RT-3DE and the serum level of miR-499 were all the highest, and were 0.932 (95% CI: 0.912, 0.984), 0.855 (95% CI: 0.796, 0.908) and 0.832 (95% CI: 0.763, 0.896), respectively. **Conclusions** The serum level of miR-499 is high in patients with heart failure, and is closely related to the cardiac functions measured via RT-3DE. The combination of cardiac function parameters measured via RT-3DE and the serum level of miR-499 is of great diagnostic value for heart failure.

**Keywords:** heart failure; real-time three-dimensional echocardiography; miR-499; cardiac function

心力衰竭(简称心衰)是指因心脏无法为机体提供充足血供所致的心脏循环障碍症候群,是诸多心血管疾病的最终转归<sup>[1]</sup>。心衰发生后非梗死区心肌细胞因血流动力学变化而出现病理性重构,易诱发心肌收缩功能降低、左心室重构,不及时治疗可发展为泵衰竭、心律失常等不可逆性恶性事件,严重影响患者预后<sup>[2-3]</sup>。而以心肌细胞丢失、心肌肥厚、心肌组织纤维化等为主要特征的心室重构、心肌细胞衰亡是诸多慢性心血管疾病的主要发病机制<sup>[4]</sup>。实时三维超声心动图(real-time three-dimensional echocardiography, RT-3DE)具有动态、操作简便、重复性高等优势,可直接显示心腔立体形态,清晰反映左房容积及功能相关状态<sup>[5-6]</sup>。有研究证实,miRNA 参与心衰、冠心病、心肌梗死等心血管疾病的发生过程<sup>[7]</sup>,但具体机制尚未完全阐明,且关于 RT-3DE 联合 miRNA 用于心血管疾病诊断中的相关研究较少报道。本研究拟探讨 RT-3DE 联合 miR-499 水平用于心衰的诊断价值,为诊治心衰、判断预后提供临床依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 1 月—2021 年 12 月就诊于青岛市

中医医院的 110 例心衰患者作为心衰组。纳入标准:①符合心衰诊断标准<sup>[8]</sup>,且经心脏彩超或胸部 X 射线明确病情;②美国纽约心脏病学会(New York heart association, NYHA)分级 II ~ IV 级;③入组前 6 个月内心衰病情稳定。排除标准:①因瓣膜脱垂、心包疾病、发绀型先天性心脏病、瓣膜重度狭窄等所致的心衰;②3 个月内曾罹患心肌炎、心绞痛、心肌梗死、严重心律失常;③合并血液系统疾病、自身免疫性疾病;④严重肝、肾功能不全;⑤妊娠期或哺乳期;⑥恶性肿瘤。另选同期本院健康体检者 60 例作为对照组,均无心脑血管疾病、免疫系统疾病、血液系统疾病、内分泌系统疾病。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者家属签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 RT-3DE 检查** 采用 iE33 型全数字化彩色心脏超声诊断仪(荷兰飞利浦公司),探头频率 1.9 ~ 3.8 MHz,取患者左侧卧位,叮嘱患者屏气,将 X3-1 矩阵探头置于患者心尖四腔心全容积面,开启全容积模式,连续获取 4 个心动周期的动态图像,调整增益、深度等参数以确保最佳图像。使用 3DQadvanced 软件与 Qlab6.0 软件对 RT-3DE 参数进行定量分析,包括左室收缩末期容积(LVESV)、左室舒张末期容积(LVEDV)、左室射血分数(LVEF)、左室 16 节段

达到收缩末期最小容积的标准差(Tmsv16-SD%)、最大差值(Tmsv16-Dif%)。所有数据测量3次,并取平均值。

**1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 miR-499 表达** 采集患者治疗前空腹静脉血 4 mL,置于含 EDTA 抗凝剂的采血管中,室温下静置 30 min,4℃、1 000 r/min 离心 10 min,移液枪移取血清置于 1.5 mL EP 管内,置于-80℃超低温冰箱中冷藏待测。参考 TRIzol 试剂盒(上海源叶生物科技有限公司)说

明书提取血清中总 RNA,使用紫外分光光度计(美国 NanoDrop 公司)测定 RNA 浓度,使用逆转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)将总 RNA 逆转录为 cDNA。通过 1500 型全自动 PCR 仪(美国 ABI 公司)进行实时荧光定量聚合酶链反应扩增,反应体系总体积为 20 μL,反应条件:95℃预变性 10 min,95℃变性 15 s,58℃退火 60 s,共 12 个循环,采集荧光,用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-499 相对表达量。对照组进行标准化处理。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物顺序 5'-3'	引物长度/bp
U6	正向: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	17
	反向: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCCGT-3'	
miR-499	正向: 5'-GATCCGCTGTTAAGACTTGCAGTGATGTTAGCTCCTCTCCATGTGAACATCACAGCAAGTCTGTGCTGCG-3'	71
	反向: 5'-AATTGCGCAGCAGACTTGCTGTGATGTTACATGGAGAGGAGCTAAACATCACTGCAAGTCTTAACACCG-3'	

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用  $t$  检验;计数资料以构成比或率(%)表示,比较用  $\chi^2$  检验;相关性分析用 Pearson 法;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线。 $P < 0.05$  为差异有

统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组一般资料比较

两组性别、体质量指数、心率、收缩压、舒张压比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	男/女/例	体质量指数/(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	心率/(次/min, $\bar{x} \pm s$ )	收缩压/(mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	舒张压/(mmHg, $\bar{x} \pm s$ )
对照组	60	35/25	23.12 ± 1.05	71.56 ± 3.41	120.65 ± 10.47	72.95 ± 4.15
心衰组	110	69/41	23.35 ± 1.28	72.59 ± 4.15	119.19 ± 9.65	73.69 ± 4.39
$\chi^2/t$ 值		0.316	1.190	1.643	0.915	1.070
<i>P</i> 值		0.574	0.236	0.102	0.361	0.286

### 2.2 两组 RT-3DE 参数、血清 miR-499 水平比较

两组 RT-3DE 参数、血清 miR-499 相对表达量比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),心衰组 LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD% 及血清 miR-499

相对表达量高于对照组,LVEF 低于对照组。见表 3。

### 2.3 心衰患者血清 miR-499 相对表达量与 RT-3DE 参数的相关性

Pearson 相关性分析显示,心衰患者血清 miR-

表 3 两组 RT-3DE 参数、血清 miR-499 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	LVEDV/mL	LVEF/%	LVESV/mL	Tmsv16-Dif/%	Tmsv16-SD/%	miR-499
对照组	60	85.36 ± 9.15	59.91 ± 5.67	44.78 ± 6.48	4.41 ± 0.77	1.46 ± 0.26	1.06 ± 0.08
心衰组	110	153.98 ± 15.72	42.96 ± 3.18	75.63 ± 10.18	5.19 ± 0.74	1.75 ± 0.31	1.26 ± 0.18
<i>t</i> 值		31.040	24.997	21.229	6.474	6.158	8.169
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

499 相对表达量与 LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD% 均呈正相关 ( $r = 0.373, 0.347, 0.228$  和  $0.395, P = 0.000, 0.000, 0.003$  和  $0.003$ ), 与 LVEF 呈负相关 ( $r = -0.341, P = 0.000$ )。见图 1 ~ 5。

### 2.4 血清 miR-499 相对表达量联合 RT-3DE 参数

### 诊断心衰的价值

ROC 曲线显示, 联合诊断的 AUC、敏感性、特异性最高, 分别为  $0.932$  (95% CI:  $0.912, 0.984$ )、 $0.855$  (95% CI:  $0.796, 0.908$ )、 $0.832$  (95% CI:  $0.763, 0.896$ )。见表 5 和图 6、7。

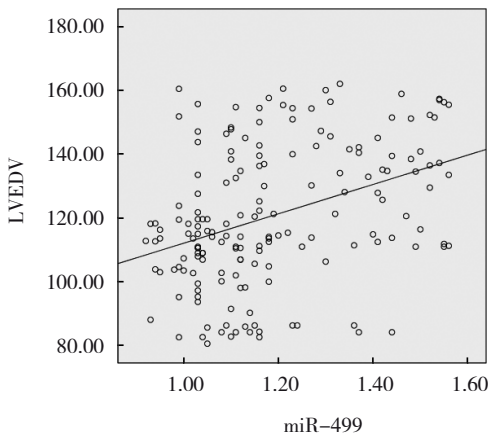


图 1 血清 miR-499 相对表达量与 LVEDV 的相关性

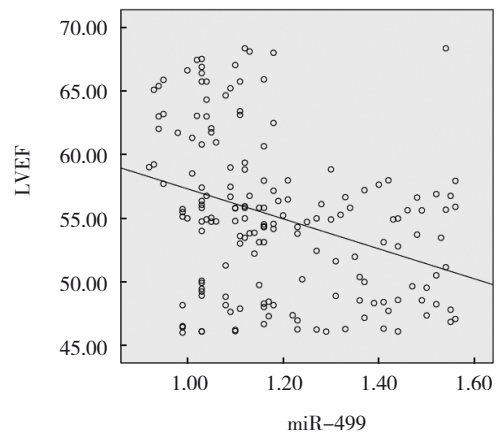


图 2 血清 miR-499 相对表达量与 LVEF 的相关性

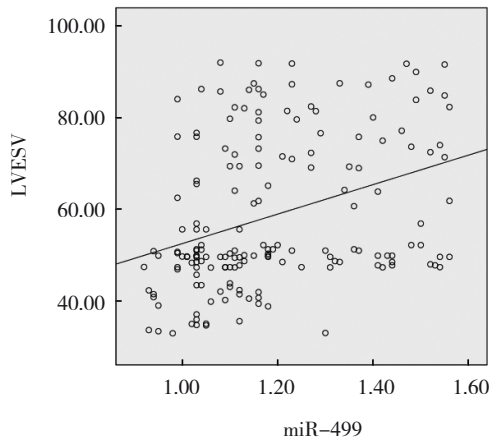


图 3 血清 miR-499 相对表达量与 LVESV 的相关性

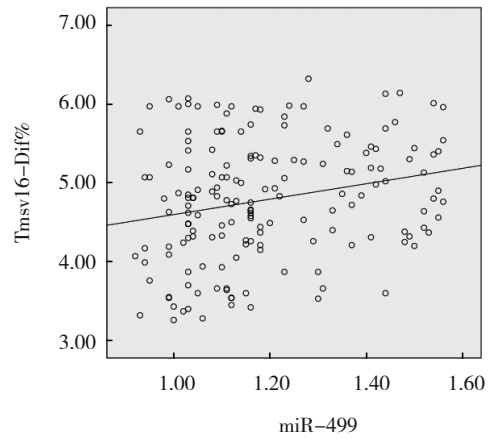


图 4 血清 miR-499 相对表达量与 Tmsv16-Dif% 的相关性

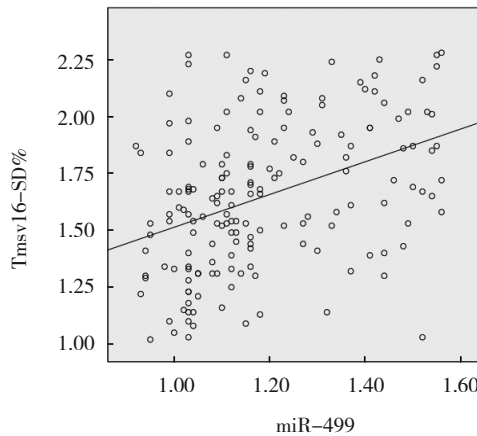


图 5 血清 miR-499 相对表达量与 Tmsv16-SD% 的相关性

表 5 血清 miR-499 表达联合 RT-3DE 参数诊断心衰的诊断效能分析

指标	截断值	$S_b$	P 值	AUC	95% CI		敏感性/ %	95% CI		特异性/ %	95% CI	
					下限	上限		下限	上限		下限	上限
LVEDV	112.535 mL	0.028	0.000	0.858	0.802	0.913	0.764	0.691	0.839	0.752	0.658	0.862
LVEF	51.658%	0.035	0.000	0.839	0.771	0.907	0.733	0.653	0.819	0.692	0.602	0.815
LVESV	52.675 mL	0.024	0.000	0.886	0.839	0.933	0.773	0.692	0.836	0.763	0.689	0.836
Tmsv16-Dif%	4.755%	0.042	0.000	0.721	0.638	0.804	0.636	0.572	0.752	0.602	0.523	0.741
Tmsv16-SD%	1.665%	0.037	0.000	0.753	0.680	0.826	0.682	0.598	0.802	0.615	0.539	0.732
miR-499	1.135	0.029	0.000	0.840	0.783	0.897	0.745	0.653	0.816	0.742	0.649	0.808
联合检测	-	0.014	0.000	0.932	0.912	0.984	0.855	0.796	0.908	0.832	0.763	0.896

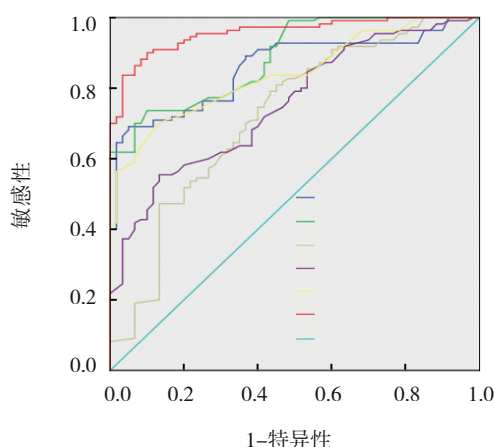


图 6 LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD%、miR-499 及联合检测诊断心衰的 ROC 曲线

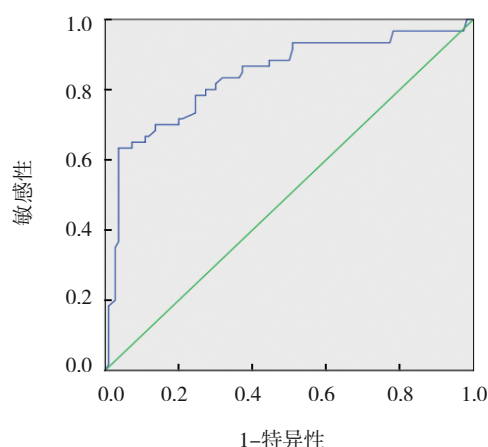


图 7 LVEF 诊断心衰的 ROC 曲线

### 3 讨论

正常情况下,心室壁实现心脏有效泵血的途径在于有节律地同步性收缩、舒张。而心衰可导致心室壁收缩运动不同步、左心室收缩功能降低、心脏血流动力学改变,从而进一步对心脏摄血功能产生不利影响<sup>[9-10]</sup>。RT-3DE 集多普勒显像技术、常规超声心动图、三维超声等优点于一体,通过实时测量心动周期中某时期的体积等参数,有助于识别左心室不同步,准确评估心功能<sup>[11]</sup>。本研究中,心衰组 LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD% 高于对照组,LVEF 低于对照组,与其他学者的研究结果基本一致<sup>[12]</sup>,充分证实 RT-3DE 可反映心衰患者的心功能损伤情况。原因在于心衰引起的左室重构可改变心室容积、心室形态,致使左室扩大、容积增加、形态趋向球形,故 LVESV、LVEDV 参数上升;而心肌质量增加,收缩力减弱,可造成 LVEF 降低。但值得注意的是,虽然 RT-3DE 通过测量 LVEF 可对收

缩性心衰严重程度进行定量评估,但在 LVEF 正常时难以评估部分舒张性心衰患者病情<sup>[13]</sup>。

miR-499 的编码基因位于人类 20 号染色体 *Myh7b* 基因内,miR-499、*Myh7b* 可协同表达于心肌纤维、骨骼纤维中<sup>[14]</sup>。研究证实,miR-499 可通过活化 PI3K/Akt 等诸多信号通路参与调控心肌细胞的增殖、凋亡等生理功能中<sup>[15]</sup>。SHIEH 等<sup>[16]</sup>在 1 项动物实验中报道,miR-499 可通过钝化心脏应激反应来调节心脏早期应答基因(如 *Fos*、*Egr2* 等)表达,miR-499 高表达可增加心脏压力负荷,从而导致心功能障碍。以上研究提示,miR-499 表达与心肌细胞凋亡、心室重构等有关。本研究中,心衰组血清 miR-499 表达高于对照组,推测血清 miR-499 表达上调可能参与心衰的发生过程,推测其原因为,当心肌细胞因缺氧缺血损伤或衰亡时,细胞内 miR-499 会过度释放进入血液中,故血清 miR-499 表达上升。

本研究发现,心衰患者血清 miR-499 表达与



LVEDV、LVESV、Tmsv16-Dif%、Tmsv16-SD% 呈正相关, 与 LVEF 呈负相关, 表明血清 miR-499 表达与心衰患者心功能相关, 推测原因为心衰加重心肌缺血, 减弱心室心肌收缩能力与左室顺应性, 增加左室僵硬度, 导致心肌细胞衰亡, 进而造成血清 miR-499 表达呈高表达。笔者认为, 当检测到患者 LVEF 正常, 而血清 miR-499 呈高表达时, 可能表示患者主要存在舒张功能不全, 而 LVEF 降低或(和)miR-499 升高, 说明患者可能存在收缩功能不全或伴有舒张功能不全。ROC 曲线结果发现, RT-3DE 参数联合 miR-499 诊断心衰的 AUC 为 0.932, 敏感性为 0.855, 特异性为 0.832, 可见联合诊断心衰中具有较高的特异性、敏感性与准确率, miR-499 不受血脂等心血管危险因素与性别、血压、年龄、白细胞等临床基础特征影响, 且体外稳定性较高, 与 RT-3DE 参数联合诊断时可有效弥补 RT-3DE 检查收缩功能正常时难以判断有无心衰的缺陷。

综上所述, 心衰患者血清 miR-499 呈高表达, 与 RT-3DE 参数密切相关, 且两者联合对心衰有良好的诊断价值。但本研究为单中心前瞻性研究, 仍存在一定不足, 如样本量少、未分析不同心功能等级心衰患者的 RT-3DE 参数、血清 miR-499 表达情况, 且针对 miR-499 参与心衰的确切机制与信号途径尚未完全阐明, 故后期需展开进一步的体内、体外或动物实验, 从蛋白、基因等不同分子水平探索 miR-499 与心衰的相关性。

#### 参 考 文 献 :

- [1] van der MEER P, GAGGIN H K, DEC G W. ACC/AHA versus ESC guidelines on heart failure: JACC guideline comparison[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(21): 2756-2768.
- [2] MULLENS W, DAMMAN K, HARJOLA V P, et al. The use of diuretics in heart failure with congestion - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(2): 137-155.
- [3] 崔泽岩, 臧艳静, 高淑娜. 血清糖类抗原 125、氨基末端脑钠肽前体和尿酸联合检测对慢性心力衰竭合并心房颤动患者预后的评估价值[J]. *临床内科杂志*, 2021, 38(2): 97-100.
- [4] WILCOX J E, FANG J C, MARGULIES K B, et al. Heart failure with recovered left ventricular ejection fraction: JACC scientific expert panel[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(6): 719-734.
- [5] 李捷, 郭冠军, 杨益宁, 等. 三维斑点追踪超声心动图对老年心力衰竭患者左心室舒张功能的评估价值[J]. *中国医师杂志*, 2021, 23(11): 1673-1676.
- [6] 白洋, 刘娟娟, 宁红霞, 等. 实时三维超声心动图评价结缔组织病相关肺动脉高压患者的右室逆向重构[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2020, 31(3): 175-179.
- [7] 孙豪杰, 王杨淦. 特发性扩张型心肌病心衰相关基因和 miRNA 的筛选与分析[J]. *重庆医科大学学报*, 2022, 47(1): 85-91.
- [8] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(10): 760-789.
- [9] SANTOS-GALLEGO C G, REQUENA-IBANEZ J A, SAN ANTONIO R, et al. Empagliflozin ameliorates adverse left ventricular remodeling in nondiabetic heart failure by enhancing myocardial energetics[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(15): 1931-1944.
- [10] AIMO A, GAGGIN H K, BARISON A, et al. Imaging, biomarker, and clinical predictors of cardiac remodeling in heart failure with reduced ejection fraction[J]. *JACC Heart Fail*, 2019, 7(9): 782-794.
- [11] MANCUSO F J N. Real-time three-dimensional echocardiography and myocardial strain: ready for use in clinical practice[J]. *Arq Bras Cardiol*, 2019, 113(5): 946-947.
- [12] 雷萍, 吴静, 赵成, 等. 实时三维超声心动图联合血清 TRPC1 水平检测对心力衰竭的诊断价值[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(22): 4887-4889.
- [13] 毛善永, 龚琳捷, 陈婷婷, 等. 心肌纵向应变及应变达峰时间离散度评价左室射血分数正常的心房颤动患者左室收缩功能[J]. *临床超声医学杂志*, 2021, 23(5): 327-331.
- [14] SHI Y J, HAN Y F, NIU L L, et al. MiR-499 inhibited hypoxia/reoxygenation induced cardiomyocytes injury by targeting SOX6[J]. *Biotechnol Lett*, 2019, 41(6/7): 837-847.
- [15] 岳莹. miR-499 通过活化 PI3K/Akt 信号通路抑制缺氧/复氧所诱导的心肌细胞凋亡[D]. 新乡: 新乡医学院, 2018.
- [16] SHIEH J T C, HUANG Y, GILMORE J, et al. Elevated miR-499 levels blunt the cardiac stress response[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19481.

(李科 编辑)

**本文引用格式:** 马建英, 王伟璐, 解春霞, 等. 实时三维超声心动图联合 microRNA-499 水平检测对心力衰竭的诊断价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(22): 38-43.

**Cite this article as:** MA J Y, WANG W L, XIE C X, et al. Diagnostic value of real-time three-dimensional echocardiography combined with miR-499 level for heart failure\*[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(22): 38-43.