

血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 在白内障术后眼内炎患者中的表达水平及意义

郝莉莉¹, 庞星宇², 阎晓庆³

引用: 郝莉莉, 庞星宇, 阎晓庆. 血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 在白内障术后眼内炎患者中的表达水平及意义. 国际眼科杂志, 2025, 25(4):627-631.

作者单位: (075000) 中国河北省张家口市第四医院¹ 眼外伤科;

² 检验科; ³ 功能科

作者简介: 郝莉莉, 女, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 白内障、眼底外科。

通讯作者: 郝莉莉. ffetcaoz@163.com

收稿日期: 2024-08-19 修回日期: 2025-02-20

摘要

目的: 研究白内障术后眼内炎患者血清微小 RNA-34a-5p (miR-34a-5p) 和沉默信息调节因子 T1 (SIRT1) 的表达变化及意义。

方法: 选取 2020-05/2024-05 白内障术后发生眼内炎患者为感染组 (20 例), 未发生眼内炎患者为对照组 (74 例)。ELISA 法检测血清 SIRT1 水平; qRT-PCR 检测血清 miR-34a-5p 水平; 采用 Pearson 法分析 miR-34a-5p 和 SIRT1 的相关性; 采用 Logistic 回归分析白内障术后发生眼内炎的影响因素。绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 水平对白内障术后发生眼内炎的诊断价值。

结果: 与对照组相比, 感染组患者血清 miR-34a-5p 水平显著升高 ($P < 0.001$), SIRT1 水平显著降低 ($P < 0.001$)。相关性分析结果显示 miR-34a-5p 和 SIRT1 呈负相关关系 ($r = -0.421, P < 0.001$)。Logistic 多因素回归分析结果显示, miR-34a-5p 是白内障术后眼内炎感染的危险因素 ($OR = 3.532, P < 0.05$), SIRT1 是白内障术后眼内炎感染的保护因素 ($OR = 0.875, P < 0.05$)。ROC 曲线显示, 血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 二者联合诊断白内障术后发生眼内炎的曲线下面积 (AUC) 为 0.933 (95% CI: 0.861-0.975)。

结论: 白内障术后眼内炎患者血清 miR-34a-5p 高表达, SIRT1 低表达, 与白内障术后眼内炎的发生发展密切相关。

关键词: 白内障术后眼内炎; 微小 RNA-34a-5p (miR-34a-5p); 沉默信息调节因子 T1 (SIRT1)

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2025.4.19

Expression levels and significance of serum miR-34a-5p and silent information regulator 1 in patients with endophthalmitis after cataract surgery

Hao Lili¹, Pang Xingyu², Yan Xiaoqing³

¹Department of Ocular Trauma; ²Department of Clinical Laboratory;

³Department of Functional Examination, the Fourth Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

Correspondence to: Hao Lili. Department of Ocular Trauma, the Fourth Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China. ffetcaoz@163.com

Received: 2024-08-19 Accepted: 2025-02-20

Abstract

• **AIM:** To investigate the expression changes and significance of serum microRNA-34a-5p (miR-34a-5p) and silent information regulator T1 (SIRT1) in patients with endophthalmitis after cataract surgery.

• **METHODS:** Patients with endophthalmitis after cataract surgery from May 2020 to May 2024 were selected as infection group (20 cases), and patients without endophthalmitis were selected as control group (74 cases). Serum SIRT1 levels were detected by ELISA; the serum level of serum miR-34a-5p was detected by qRT-PCR; the correlation between miR-34a-5p and SIRT1 was analyzed by Pearson method; Logistic regression was used to analyze the influencing factors of endophthalmitis after cataract operation. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the diagnostic value of serum miR-34a-5p and SIRT1 levels in postoperative endophthalmitis.

• **RESULTS:** Compared with the control group, the serum level of miR-34a-5p in the infected group was significantly increased ($P < 0.001$), and the serum level of SIRT1 was significantly decreased ($P < 0.001$). Correlation analysis showed that miR-34a-5p was negatively correlated with SIRT1 ($r = -0.421, P < 0.001$). Logistic multivariate regression analysis showed that miR-34a-5p was an independent risk factor affecting endophthalmitis infection after cataract surgery ($OR = 3.532, P < 0.05$), and SIRT1 was a protective factor affecting endophthalmitis infection after cataract surgery ($OR = 0.875, P < 0.05$). The ROC curve showed that the area under curve (AUC) of serum miR-34a-5p

combined with SIRT1 in the diagnosis of postoperative endophthalmitis was 0.933 (95%CI: 0.861-0.975).

• CONCLUSION: Serum levels of miR-34a-5p are highly expressed and SIRT1 is lowly expressed in postoperative endophthalmitis, they are closely related to the occurrence and development of endophthalmitis after cataract surgery.

• KEYWORDS: endophthalmitis after cataract surgery; microRNA-34a-5p (miR-34a-5p); silent information regulator T1 (SIRT1)

Citation: Hao LL, Pang XY, Yan XQ. Expression levels and significance of serum miR-34a-5p and silent information regulator 1 in patients with endophthalmitis after cataract surgery. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025,25(4):627-631.

0 引言

白内障是导致失明的主要原因,白内障手术后眼内炎是一种相对罕见但可能具有视觉破坏性的并发症^[1]。白内障经过手术治疗大多数患者能恢复视力,但由于多种因素的影响,术后并发症不断增加,其中眼内炎最为严重^[2]。因此,寻找白内障手术后眼内炎的标志物对于疾病防治非常重要。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类具有20-25个核苷酸的小非编码RNA,据报道,许多miRNA在白内障中失调,并与白内障的发病机制和发展有关,在白内障中能够观察到高水平的miRNA^[3]。研究表明miRNA-34a在视网膜病变组房水中上调^[4]。抑制miR-34a-5p可以抑制H₂O₂诱导人晶状体上皮细胞中的凋亡和氧化损伤^[5]。沉默信息调节因子T1(SIRT1)是一种NAD依赖性Ⅲ类蛋白组蛋白脱乙酰酶,调节参与炎症相关疾病的各种转录因子和辅因子的活性;它是氧化还原稳态的重要调节剂,在调节细胞存活、凋亡和炎症中发挥重要作用^[6]。上调SIRT1能通过调控自噬参与视网膜色素上皮细胞炎症和细胞死亡过程^[7]。研究证明炎症与眼内炎的发生密切相关,本文主要研究白内障术后眼内炎患者血清miR-34a-5p和SIRT1的表达变化及其与白内障术后眼内炎的关系,为疾病的防治提供参考。

1 对象和方法

1.1 对象 选取本院2020-05/2024-05白内障术后发生眼内炎患者为感染组(20例),同期白内障术后未发生眼内炎患者为对照组(74例)。感染组中男6例,女14例,年龄67.13±9.48岁。对照组男39例,女35例,年龄63.44±8.61岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。纳入标准:(1)患者均行白内障手术;(2)术后患者出现眼球疼痛、分泌物增多、玻璃体混浊、眼睑肿胀、视力下降等现象,符合眼内炎诊断标准^[8];(3)未进行其它眼部手术患者;(4)入院资料完整。排除标准:(1)晶状体过敏性眼内炎;(2)晶状体皮质残留引起的炎症;(3)前房积脓葡萄膜炎;(4)眼前段毒性反应综合征。本研究已经过本院伦理委员会批准(批准号:2020-03035),参与者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集所有参与者年龄、性别、糖尿病史、高血压史、吸烟史、手术时长、手术切口、玻璃体溢出等资料。

1.2.2 血清 SIRT1 水平检测 采集所有受试者空腹静脉血5 mL,离心(3 000 r/min, 10 min),分离血清,于-80 °C冰箱保存备用。严格按照SIRT1(货号:CB10432-Hu)ELISA检测试剂盒说明,检测血清SIRT1水平。

1.2.3 血清 miR-34a-5p 水平检测 使用Trizol试剂提取样本总RNA,使用反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA。严格按照SYBR Green QPCR试剂盒说明书操作进行qRT-PCR分析。每个PCR反应包含10 μL 2×SYBR预混物、3 pmol正向引物、3 pmol普通反向引物、25 ng模板cDNA和DDW,最大体积为20 μL。实时PCR程序:预变性95 °C, 15 min;变性94 °C, 5 s;退火60-65 °C, 35 s;延伸72 °C, 5 s。引物序列见表1。

统计学分析:采用统计学软件SPSS 22.0进行分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用Pearson法分析miR-34a-5p和SIRT1相关性;采用Logistic回归分析白内障术后眼内炎的影响因素。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清miR-34a-5p和SIRT1水平对白内障术后眼内炎的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 感染组玻璃体溢出患者比例显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组年龄、性别、高血压史、吸烟史、糖尿病史、手术时长、手术切口比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$),见表2。

2.2 两组血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 水平比较 与对照组相比,感染组患者血清miR-34a-5p表达水平显著升高($P<0.001$),SIRT1水平显著降低($P<0.001$),见表3。

2.3 miR-34a-5p 和 SIRT1 相关性分析 Pearson相关性分析结果显示,miR-34a-5p和SIRT1呈负相关($r=-0.421, P<0.001$),见图1。

2.4 Logistic 多因素回归分析 白内障术后发生眼内炎的影响因素以白内障患者术后是否发生眼内炎为因变量(是=1,否=0),以玻璃体溢出、miR-34a-5p、SIRT1为自变量进行Logistic多因素回归分析,结果显示miR-34a-5p是白内障术后发生眼内炎的危险因素($OR=3.532, P<0.05$),SIRT1是白内障术后发生眼内炎的保护因素($OR=0.875, P<0.05$),见表4。

2.5 血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 水平对白内障术后发生眼内炎的诊断价值 血清miR-34a-5p水平诊断白内障术后发生眼内炎的曲线下面积(AUC)为0.911(95%CI: 0.834-0.961),截断值为1.12,敏感度为88.89%,特异度为85.14%,约登指数为0.740;血清SIRT1水平诊断的AUC为0.859(95%CI: 0.771-0.923),截断值为1.92 ng/mL,敏感度为66.67%,特异度为91.89%,约登指数为0.586;二者联合诊断的AUC为0.933(95%CI: 0.861-0.975),敏感度为83.33%,特异度为89.19%,约登指数为0.725,见图2。

表1 引物序列

指标	上游(5'-3')	下游(5'-3')
miR-34a-5p	CTGGGAGGTGGCAGTGTCTTAGC	TCAACTGGTGTGTCGTGGAGTCGG
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCCT

表2 对照组和感染组一般资料比较

指标	例数	对照组(74例)	感染组(20例)	χ^2	P
年龄(岁)				0.002	0.965
<60	38	30(40.5)	8(40.0)		
≥ 60	56	44(59.5)	12(60.0)		
性别				3.252	0.071
男	45	39(52.7)	6(30.0)		
女	49	35(47.3)	14(70.0)		
高血压史				2.881	0.090
无	62	52(70.3)	10(50.0)		
有	32	22(29.7)	10(50.0)		
糖尿病史				1.095	0.295
无	52	43(58.1)	9(45.0)		
有	42	31(41.9)	11(55.0)		
吸烟史				0.054	0.816
无	59	46(62.2)	13(65.0)		
有	35	28(37.8)	7(35.0)		
手术时长(min)				0.009	0.926
≥ 20	29	23(31.1)	6(30.0)		
<20	65	51(68.9)	14(70.0)		
玻璃体溢出				21.127	<0.01
否	74	66(89.2)	8(40.0)		
是	20	8(10.8)	12(60.0)		
手术切口				0.054	0.816
透明角膜	59	46(62.2)	13(65.0)		
巩膜隧道	35	28(37.8)	7(35.0)		

注:感染组为白内障术后发生眼内炎患者;对照组为同期白内障术后未发生眼内炎患者。

表3 两组血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	miR-34a-5p	SIRT1 (ng/mL)
对照组	74	1.03 \pm 0.09	2.07 \pm 0.10
感染组	20	1.21 \pm 0.17	1.73 \pm 0.13
t		-6.415	12.622
P		<0.001	<0.001

注:感染组为白内障术后发生眼内炎患者;对照组为同期白内障术后未发生眼内炎患者。

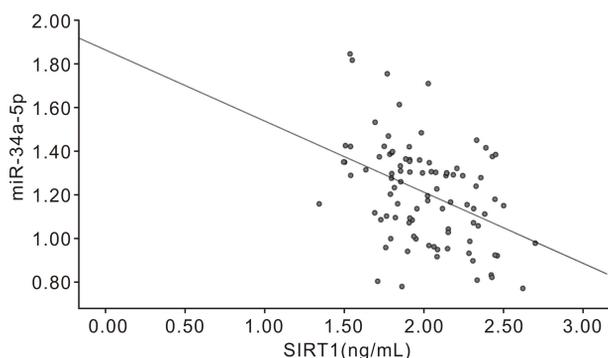


图1 miR-34a-5p 和 SIRT1 相关性。

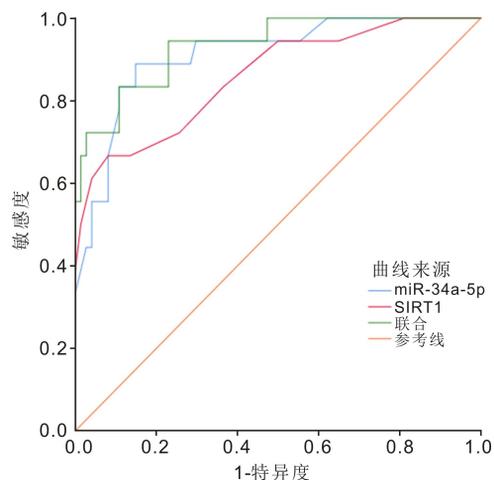


图2 ROC 曲线分析血清 miR-34a-5p 和 SIRT1 水平对白内障术后发生眼内炎的诊断价值。

3 讨论

白内障是最常见的眼部疾病,为人类的生活带来诸多不便,早期发现对预防失明至关重要^[9]。超声乳化术是白内障手术常用技术手段之一,其并发症少,视力恢复迅

表4 Logistic多因素回归分析白内障术后发生眼内炎的预后影响因素

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
玻璃体溢出	0.132	0.205	0.414	0.520	1.141	0.763-1.705
miR-34a-5p	1.262	0.407	9.613	0.002	3.532	1.591-7.843
SIRT1	-0.134	0.033	16.373	<0.001	0.875	0.820-0.933

速^[10]。但术后眼内炎仍是白内障手术后可能发生的严重并发症,通常会导致视力不佳,严重者甚至会摘除眼球^[11]。眼内炎的发生可能与术前术后环境、手术材料、患者年龄等多种因素密切相关^[12]。因此寻找一种简便快捷的方式诊断白内障术后眼内炎的发生对白内障眼内炎的预防和发生至关重要。

miRNA在细胞分化、增殖和凋亡等细胞过程中起调节作用,研究发现其参与许多眼部疾病的发病机制,在白内障的发展过程中,越来越多的miRNA异常表达已经被发现,miR-199a可以通过直接调节SP1影响糖尿病白内障的上皮间充质转化(EMT),改善糖尿病白内障^[13]。Gao等^[14]研究也表明miRNA可能在糖尿病和白内障的机制中发挥重要作用。唐雷等^[15]研究表明年龄相关性白内障晶状体组织中miR-34a-5p表达升高,miR-34a-5p过表达增加晶状体上皮细胞氧化应激,抑制晶状体上皮细胞增殖,参与年龄相关性白内障的发生发展。但其对白内障术后眼内炎的影响尚不明确。本研究结果显示,与对照组相比,感染组白内障术后眼内炎患者血清中miR-34a-5p表达水平显著升高,且miR-34a-5p是白内障术后眼内炎的危险因素。推测当患者感染时,miR-34a-5p水平升高,进而加强患者晶状体上皮细胞的氧化应激反应,抑制细胞增殖,进而导致患者眼内炎的感染加重。Wang等^[16]研究表明miR-34a-5p是晶状体上皮细胞氧化应激的负调节因子,miR-34a-5p的过表达能够诱导细胞凋亡和氧化损伤。王凡寅等^[17]研究也表明在H₂O₂诱导兔源性晶状体上皮细胞中,通过下调miR-34a-5p表达,使晶状体上皮细胞活性上升,改善氧化应激,同时减轻氧化应激造成的损伤,抵抗细胞衰老及凋亡的作用,提示miR-34a-5p高表达可能通过促进晶状体上皮细胞氧化应激反应,参与白内障术后眼内炎的发生发展。

SIRT1是sirtuin家族的成员,对眼睛发育很重要,其在眼部干细胞的自我更新和衰老过程中发挥着重要作用,已被认为可以预防各种眼部疾病的发病机制^[18]。在白内障晶状体上皮细胞中SIRT1低表达,可促进晶状体上皮细胞凋亡,从而导致年龄相关性白内障的发生^[19]。文晓霞等^[20]研究表明糖尿病视网膜病变患者血清SIRT1水平降低,对糖尿病视网膜病变具有一定诊断价值。与本研究结果相似。本研究中白内障术后发生眼内炎患者血清中SIRT1水平降低,SIRT1是白内障术后眼内炎的保护因素。推测SIRT1水平可能与细胞凋亡有关,通过上调SIRT1水平增强细胞活力,抑制细胞凋亡,减轻患者眼内炎感染。Wu等^[21]研究表明UVB辐射暴露通过降低SIRT1水平,抑制KEAP1/NFE2L2通路,从而降低其抗氧化作用,增加晶状体上皮细胞的凋亡,进而诱发白内障。Lian等^[22]研究表明SIRT1下调促进核苷酸结合寡聚化结构域样受体3(NLRP3)炎症小体的产生,加剧高糖(HG)诱导的人晶

状体上皮细胞(HLEC)和大鼠晶状体上皮损伤。推测SIRT1低表达可能通过促进机体炎症反应发生和晶状体上皮细胞凋亡,降低机体抗氧化能力,进而促进白内障术后眼内炎的发展。

据报道SIRT1是miR-34a的靶标基因之一,miR-34a与SIRT1之间呈负相关,miR-34a/SIRT1可通过调控p53的去乙酰化比例参与白内障的发生发展^[23]。Xiu等^[24]研究也表明miR-34a表达水平的上调与大鼠白内障的发生有关,这可能是由SIRT1蛋白的调节引起的。生物学信息网(<https://rnasysu.com/encori/>)预测miR-34a-5p和SIRT1之间存在靶向关系,本研究相关性分析结果显示miR-34a-5p和SIRT1之间呈负相关,与预测结果一致。推测miR-34a-5p和SIRT1之间存在靶向负调控关系,miR-34a-5p高表达通过靶向负调控SIRT1水平,促进氧化应激及炎症反应的发生,促进细胞凋亡,参与白内障发生发展,进而导致术后眼内炎的发生。进一步研究显示,血清miR-34a-5p和SIRT1二者联合诊断白内障术后发生眼内炎AUC为0.933,提示二者联合诊断对于评估白内障术后发生眼内炎具有一定的临床价值。

综上所述,白内障术后眼内炎患者血清中miR-34a-5p高表达,SIRT1低表达,二者联合检测在白内障术后眼内炎的诊断中具有一定临床价值,为白内障术后眼内炎的诊断提供新思路,本研究样本量有限,且未对患者血清指标进行动态监测,后续将继续分析,其具体作用机制也需进一步探究。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 郝莉莉、阎晓庆论文选题与修改,数据分析;郝莉莉、庞星宇文献检索,数据分析,初稿撰写。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Hui YN. Intraocular lens removal or not during vitrectomy for acute infectious endophthalmitis after cataract surgery. *Int J Ophthalmol*, 2022, 15(6):855-856.
- [2] 符郁,岑育健,符密,等. 血清PCT和hs-CRP水平及CD64指数在白内障术后感染性眼内炎诊断中的应用. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(23):3614-3617, 3636.
- [3] Benavides-Aguilar JA, Morales-Rodríguez JI, Ambriz-González H, et al. The regulatory role of microRNAs in common eye diseases; a brief review. *Front Genet*, 2023, 14:1152110.
- [4] Taghvaei-Bijandi E, Abedian F, Ahmadzadeh Amiri A, et al. The upregulation of HLA-G1 and miRNA-34a in lens epithelial cells of diabetic retinopathy patients. *Iran J Immunol*, 2023, 20(2):202-210.
- [5] Wu BH, Sun Y, Hou JM. CircMED12L protects against hydrogen peroxide-induced apoptotic and oxidative injury in human lens epithelial cells by miR-34a-5p/ALCAM axis. *Curr Eye Res*, 2022, 47(12):1631-1640.

- [6] Singh V, Ubaid S. Role of silent information regulator 1 (SIRT1) in regulating oxidative stress and inflammation. *Inflammation*, 2020,43(5):1589–1598.
- [7] Yang PM, Cheng KC, Huang JY, et al. Sulforaphane inhibits blue light-induced inflammation and apoptosis by upregulating the SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 pathway and autophagy in retinal pigment epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021,421:115545.
- [8] 中华医学会眼科学分会白内障与人工晶状体学组. 我国白内障术后急性细菌性眼内炎治疗专家共识(2010年). *中华眼科杂志*, 2010,46(8):764–766.
- [9] Askarian B, Ho P, Chong JW. Detecting cataract using smartphones. *IEEE J Transl Eng Health Med*, 2021,9:3800110.
- [10] Chen XY, Xu JJ, Chen XJ, et al. Cataract: Advances in surgery and whether surgery remains the only treatment in future. *Adv Ophthalmol Pract Res*, 2021,1(1):100008.
- [11] Rathi VM, Sharma S, Das T, et al. Endophthalmitis prophylaxis study, report 2: intracameral antibiotic prophylaxis with or without postoperative topical antibiotic in cataract surgery. *Indian J Ophthalmol*, 2020,68(11):2451–2455.
- [12] Shi SL, Yu XN, Cui YL, et al. Incidence of endophthalmitis after phacoemulsification cataract surgery: a Meta-analysis. *Int J Ophthalmol*, 2022,15(2):327–335.
- [13] Liu X, Gong QY, Yang LF, et al. microRNA-199a-5p regulates epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic cataract by targeting SP1 gene. *Mol Med*, 2020,26(1):122.
- [14] Gao C, Fan F, Liu X, et al. Exosomal miRNA analysis of aqueous humour of diabetes and cataract patients. *Curr Eye Res*, 2021,46(3):324–332.
- [15] 唐雷, 徐曼华, 王妍茜, 等. miR-34a-5p 通过调节 Nrf2-Keap1 信号通路介导年龄相关性白内障氧化应激的实验研究. *眼科新进展*, 2019,39(7):635–639.
- [16] Wang S, Yu MS, Yan H, et al. miR-34a-5p negatively regulates oxidative stress on lens epithelial cells by silencing GPX3 - A novel target. *Curr Eye Res*, 2022,47(5):727–734.
- [17] 王凡寅, 张桐, 祝天辉, 等. miR-34a-5p 对 H₂O₂ 诱导兔源性晶状体上皮细胞凋亡的作用机制. *中国老年学杂志*, 2023,43(1):136–139.
- [18] Ađaođlu NB, Varol N, Yıldız SH, et al. Relationship between SIRT1 gene expression level and disease in age-related cataract cases. *Turk J Med Sci*, 2019,49(4):1068–1072.
- [19] 孔俐, 文燕, 刘真, 等. 年龄相关性白内障晶状体上皮细胞中 miR-181a 和 SIRT1 的表达关系及意义. *中国老年学杂志*, 2020,40(6):1274–1278.
- [20] 文晓霞, 郭红建, 汤云霞. 血清 lncRNA XIST 和 SIRT1 水平与 DR 的关系及其诊断价值. *国际眼科杂志*, 2024,24(8):1218–1222.
- [21] Wu FY, Xia XY, Lei T, et al. Inhibition of SIRT1 promotes ultraviolet B induced cataract *via* downregulation of the KEAP1/NFE2L2 signaling pathway. *J Photochem Photobiol B*, 2023,245:112753.
- [22] Lian LL, Le ZM, Wang ZZ, et al. SIRT1 inhibits high glucose-induced TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and cataract formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023,64(3):16.
- [23] 季青山, 俞茜, 孙思勤, 等. miR-34a/SIRT1 表达水平与大鼠白内障发生的相关性研究. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2017,11(13):1982–1986.
- [24] Xiu CM, Jiang J, Song RY. Expression of miR-34a in cataract rats and its related mechanism. *Exp Ther Med*, 2020,19(2):1051–1057.