

GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN MỨC ĐỘ SUY GAN CỦA
NỒNG ĐỘ YẾU TỐ HOẠI TỬ U ALPHA HUYẾT TƯƠNG Ở
BỆNH NHÂN XƠ GAN DO RƯỢU

Dương Quang Huy¹, Đào Đức Tiến²

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá giá trị của nồng độ yếu tố hoại tử u alpha (tumor necrosis factor alpha - TNF- α) huyết tương trong chẩn đoán mức độ suy gan ở bệnh nhân (BN) xơ gan do rượu. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu tiến cứu, mô tả, cắt ngang trên 45 BN xơ gan do rượu và 30 người khỏe mạnh được xét nghiệm TNF- α máu lúc đói tại Khoa Nội tiêu hóa, Bệnh viện Quân y 103. **Kết quả:** Trung vị nồng độ TNF- α huyết tương ở bệnh nhân xơ gan do rượu là 34,6 pg/mL, cao hơn có ý nghĩa so với chỉ số tương ứng ở nhóm chứng 13,3 pg/mL, $p = 0,021$. Nồng độ TNF- α huyết tương có giá trị chẩn đoán xơ gan với AUC 0,68 (95%CI = 0,56 - 0,80). Nồng độ TNF- α huyết tương có tương quan thuận mức độ chặt với điểm Child-Pugh ($r = 0,73$, $p < 0,001$) và có giá trị dự báo mức độ suy gan Child-Pugh B/C với AUC 0,99 (95%CI = 0,98 - 1,00), tại điểm cắt 15,36 pg/mL có độ nhạy 93,9%; độ đặc hiệu 100%. **Kết luận:** TNF- α huyết tương có giá trị chẩn đoán xơ gan và tiên lượng mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh.

* *Từ khóa:* TNF- α ; Xơ gan; Child-Pugh.

DIAGNOSTIC VALUE OF SERUM TUMOR NECROSIS FACTOR
ALPHA LEVEL IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC CIRRHOSIS

Summary

Objectives: To evaluate the value of serum tumor necrosis factor alpha (TNF- α) level in the diagnosis of alcoholic cirrhosis and its severity. **Subjects and methods:** A prospective, cross-sectional, descriptive study carried out on 45 patients with alcoholic cirrhosis and 30 control healthy subjects in the Digestive Department

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 175

Người phản hồi: Dương Quang Huy (huyduonghvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 25/4/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 09/5/2022

of Military Hospital 103. Serum TNF- α concentration was determined by *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA). **Results:** Median serum TNF- α levels in patients with alcoholic cirrhosis was 34.6 pg/mL, significantly higher than that in the control group (13.3 pg/mL), $p = 0.021$. TNF- α predicted alcoholic cirrhosis with AUC of 0.68 (95%CI = 0.56 - 0.80). Serum TNF- α levels were significantly positive correlated to Child-Pugh score ($r = 0.73$, $p < 0.001$). At the cut-off value of 15.36 pg/mL, TNF- α had 93.6% sensitivity, and 100% specificity for predicting Child-Pugh B/C alcoholic cirrhosis. **Conclusion:** The serum TNF- α was a useful biomarker in the diagnosis of alcoholic cirrhosis and its severity according to the Child-Pugh classification.

* *Keywords:* Tumor necrosis factor alpha (TNF- α); Cirrhosis; Child-Pugh.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cơ chế bệnh sinh của tổn thương gan do rượu từ gan nhiễm mỡ đến xơ hóa gan và xơ gan rất phức tạp, có sự tham gia của nhiều yếu tố như stress oxy hóa, thiếu hụt glutathione, chuyển hóa methionine bất thường...trong đó vai trò của nhiều cytokine như interleukin (IL)-1 α , IL-6, IL-8, IL-18, yếu tố hoại tử u (TNF)... của đáp ứng miễn dịch bẩm sinh đã được ghi nhận là những yếu tố gây tổn thương gan, thúc đẩy quá trình tạo xơ và hình thành xơ gan [1, 2].

Yếu tố hoại tử khối u alpha là một polypeptide có trọng lượng phân tử khoảng 17 kDa được sản xuất chính bởi đại thực bào, tế bào bạch cầu đơn nhân, tế bào lympho T... với nhiều chức năng khác nhau như điều chỉnh

quá trình viêm, chết tế bào theo chương trình, sự di trú, phân chia và biệt hóa tế bào [1]. Với bệnh gan, TNF- α giữ vai trò chủ đạo khởi phát tổn thương tế bào gan, duy trì phản ứng viêm, hoạt hóa tế bào sinh xơ gây xơ hóa gan. Kết quả nhiều nghiên cứu cho thấy nồng độ TNF- α tương quan với mức độ xơ hóa gan, tình trạng suy chức năng gan và việc điều trị thuốc kháng TNF- α đã giúp cải thiện chức năng gan và làm chậm sự tiến triển của bệnh [2, 3]. Với đặc điểm sinh lý bệnh như vậy, chúng tôi cho rằng nồng độ TNF- α huyết tương có thể giúp chẩn đoán xơ gan, cũng như đánh giá chức năng gan. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá giá trị của nồng độ TNF- α huyết tương trong chẩn đoán mức độ suy gan ở BN xơ gan do rượu.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 45 BN xơ gan do rượu được điều trị nội trú tại khoa Nội tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 11/2018 - 6/2019.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn*: BN khám lâm sàng và xét nghiệm có đủ 2 hội chứng suy chức năng gan và tăng áp lực tĩnh mạch cửa (TALTM) cùng với thay đổi hình thái gan trên siêu âm gan và bệnh nhân có tình trạng lạm dụng rượu đánh giá theo bộ câu hỏi AUDIT của Tổ chức y tế thế giới [4].

* *Tiêu chuẩn loại trừ*: BN xơ gan căn nguyên liên quan virus viêm gan, thuốc..., xơ gan kèm theo ung thư biểu mô tế bào gan; đang có biến chứng nặng như xuất huyết tiêu hóa hoặc có các bệnh lý tim mạch, hô hấp, khớp, nội tiết kèm theo; đang sử dụng một số thuốc ảnh hưởng xét nghiệm nồng độ TNF- α ...

* *Nhóm chứng*: 30 người khỏe mạnh, không có bệnh lý gan mật, nội tiết, tim mạch, không lạm dụng rượu...có phân bố tuổi tương đương với nhóm bệnh.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu tiền cứu, mô tả, cắt ngang có so sánh với nhóm chứng.

- Tất cả BN chọn vào nghiên cứu được khám lâm sàng và chỉ định các

xét nghiệm cần thiết để xác định hội chứng suy chức năng gan và TALTM. Phân loại mức độ suy gan theo thang điểm Child - Pugh (1973).

* *Định lượng TNF- α huyết tương*: BN nhịn ăn sáng, lấy 3 mL máu ly tâm 5000 vòng/phút trong 5 phút rồi tách 1,5 mL huyết tương. Mỗi mẫu huyết tương có mã số riêng, lưu trữ trong tủ lạnh âm sâu -80°C tại Trung tâm Nghiên cứu Y Dược học Quân sự - Học viện Quân y. Khi đủ số lượng, các mẫu được lấy khỏi tủ lạnh và rã đông trong vòng 2 giờ. Tiến hành định lượng TNF- α dựa trên kỹ thuật xét nghiệm định lượng hấp thụ miễn dịch gắn enzyme kiểu sandwich trên máy ELISA Thermo scientific, sử dụng bộ kit Human TNF- α ELISA của hãng Multisciences, Trung Quốc.

* *Xử lý và phân tích số liệu*: Phần mềm thống kê y học SPSS 20.0, vẽ biểu đồ trên Excel 2010. Xây dựng đường cong ROC (Receiver Operating Characteristic) và xác định diện tích dưới đường cong (AUC - Area under the curve) để tìm ra điểm cắt hợp lý với độ đặc hiệu và độ nhạy tương ứng (điểm cắt là điểm mà tại đó giá trị J lớn nhất với $J = \text{độ nhạy} + \text{độ đặc hiệu} - 1$). Với điểm cắt tìm được, sử dụng bảng 2x2 để xác định lại độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp), giá trị tiên đoán dương (PPV) và giá trị tiên đoán âm (NPV).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Một số đặc điểm nhóm nghiên cứu và nhóm chứng.

Tuổi, giới tính		Nhóm chứng (n = 30)		Nhóm nghiên cứu (n = 45)		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Giới tính	Nam	30	100	45	100	> 0,05
	Nữ	0	0	0	0	
Tuổi trung bình		46,4 ± 15,6		51,8 ± 8,4		> 0,05
Mức độ suy gan	Child-Pugh A	-		12	26,7	-
	Child-Pugh B	-		18	40,0	
	Child-Pugh C	-		15	33,3	
Điểm Child-Pugh TB		-		8,6 ± 2,2		-

100% BN xơ gan trong nghiên cứu là nam giới với tuổi trung bình 51,8 ± 8,4. Không có sự khác biệt về tuổi trung bình của nhóm BN nghiên cứu và nhóm chứng (p > 0,05). Mức độ suy chức năng gan chiếm đa số là Child - Pugh B và C (73,3%) với điểm Child-Pugh trung bình 8,6 ± 2,2.

Bảng 2: Biến đổi nồng độ TNF-α huyết tương ở BN xơ gan so với nhóm chứng.

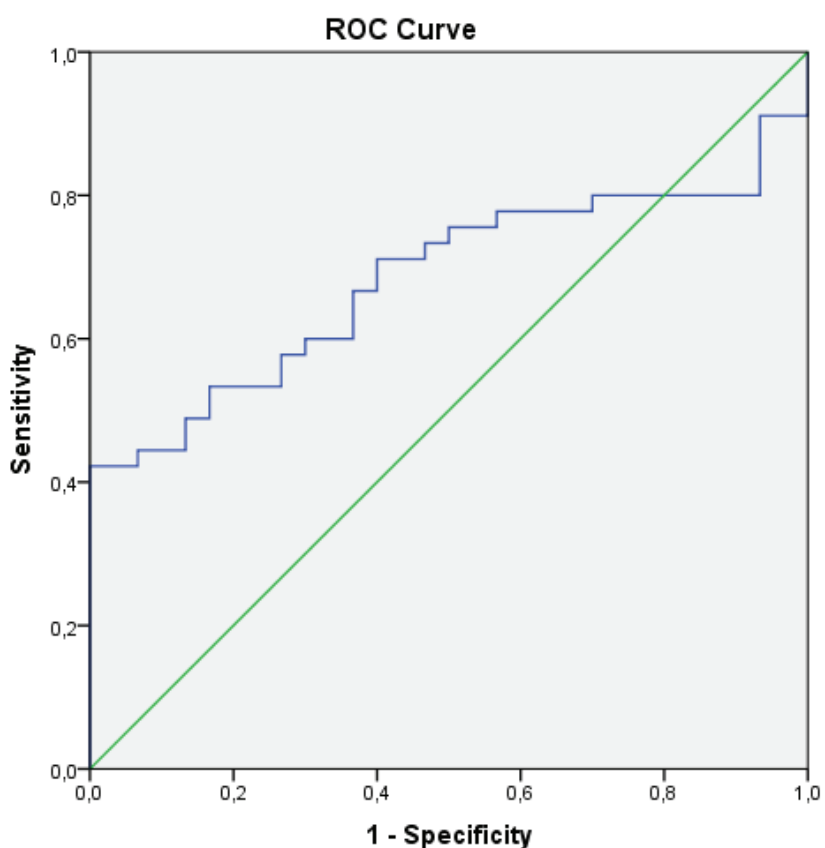
TNF-α huyết tương (pg/mL)	Nhóm chứng (n = 30)	Nhóm xơ gan rượu (n = 45)	p
$\bar{x} \pm SD$	18,8 ± 12,3	47,6 ± 45,3	0,008
Median (Q1-Q3)	13,3 (10,4 - 28,4)	34,6 (12,7 - 65,3)	0,021

Trung vị nồng độ TNF-α huyết tương ở nhóm BN xơ gan là 34,6 pg/mL, cao hơn rõ so với trung vị nồng độ TNF-α ở nhóm chứng là 13,3 pg/mL, p = 0,021.

Bảng 3: Giá trị chẩn đoán xơ gan của TNF- α so với nhóm chứng.

	Điểm cắt	AUC (95% CI)	Se	Sp	PPV	NPV	p
TNF- α (pg/mL)	50,11	0,68 (0,56 - 0,80)	42,2%	100%	100%	53,6%	0,008

Nồng độ TNF- α huyết thanh có giá trị chẩn đoán xơ gan ở mức trung bình với AUC là 0,68 (95%CI = 0,56 - 0,80). Tại điểm cắt 50,11 pg/mL, chẩn đoán xơ gan so với nhóm chứng có độ nhạy 42,2%, độ đặc hiệu 100%; giá trị tiên đoán dương 100% và giá trị tiên đoán âm là 53,6%.



Biểu đồ 1: Đường cong ROC của TNF- α trong chẩn đoán xơ gan so với nhóm chứng.

Bảng 4: Mối liên quan giữa nồng độ TNF- α huyết tương với mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh.

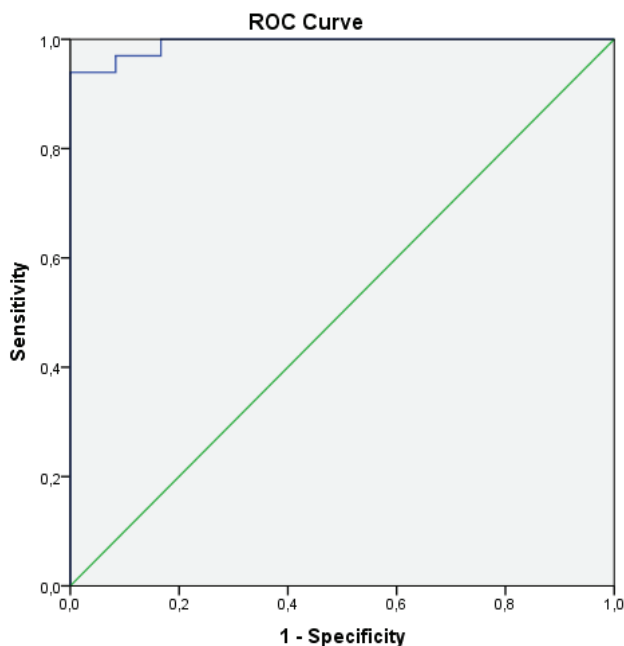
Mức độ suy gan	Nồng độ TNF- α huyết tương (pg/mL) Median (Q1-Q3)	p
Child-Pugh A	6,34 (4,85 - 9,81)	$p_{A-B} < 0,001$ $p_{B-C} < 0,001$ $p_{A-C} < 0,001$
Child-Pugh B	30,02 (16,67 - 54,70)	
Child-Pugh C	66,70 (62,13 - 139,80)	
Điểm Child-Pugh	0,73	$< 0,001$

Trung vị nồng độ TNF- α huyết tương ở phân nhóm BN xơ gan Child-Pugh B/C cao hơn rõ so với chỉ số tương ứng ở phân nhóm xơ gan Child-Pugh A ($p < 0,001$). Có mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α với điểm Child-Pugh ($r = 0,73$, $p < 0,001$).

Bảng 5: Giá trị chẩn đoán mức độ suy gan Child-Pugh B/C của TNF- α .

	Điểm cắt	AUC (95% CI)	Se	Sp	PPV	NPV	p
TNF- α (pg/mL)	15,36	0,99 (0,98 - 1,00)	93,9%	100%	100%	85,7%	$< 0,001$

Nồng độ TNF- α huyết tương có giá trị chẩn đoán mức độ suy gan Child-Pugh B/C ở mức rất tốt với AUC là 0,99 (95%CI = 0,98 - 1,00). Tại điểm cắt 15,36 pg/mL, chẩn đoán mức độ suy gan nặng có độ nhạy 93,9%, độ đặc hiệu 100%; giá trị tiên đoán dương 100% và giá trị tiên đoán âm là 85,7%, $p < 0,001$.



Biểu đồ 2: Đường cong ROC của TNF- α trong chẩn đoán mức độ suy gan Child-Pugh B/C.

BÀN LUẬN

1. Giá trị nồng độ TNF- α huyết tương ở BN xơ gan

Định lượng nồng độ TNF- α huyết tương ở 45 BN xơ gan do rượu và 30 người khỏe mạnh cùng tuổi theo phương pháp hấp thụ miễn dịch gắn enzyme, chúng tôi nhận thấy nồng độ TNF- α huyết tương trung bình ở nhóm bệnh nhân xơ gan do rượu là $47,6 \pm 45,3$, trung vị $34,6$ pg/mL, cao hơn rõ rệt so với giá trị tương ứng ở nhóm chứng là $18,8 \pm 12,3$, trung vị $13,3$ pg/mL, $p = 0,021$. Kết quả phù hợp với kết quả nghiên cứu của Prystupa A. và CS (2016) ghi nhận nồng độ TNF- α huyết

tương ở 62 BN xơ gan do rượu tăng cao hơn rõ so với nhóm 31 người khỏe mạnh không có bệnh gan ($3,42 \pm 2,75$ so với $1,645 \pm 0,945$ pg/mL, $p < 0,05$) [5] hay nghiên cứu của Mohammed B.J. và CS (2018) thực hiện trên 69 BN xơ gan, đối chứng với 50 người khỏe mạnh cũng cho thấy nồng độ TNF- α huyết tương ở BN xơ gan cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ($35,41 \pm 2,15$ so với $14,33 \pm 1,62$ pg/mL $p < 0,001$) [6].

Nồng độ TNF- α huyết tương ở BN xơ gan do rượu cao hơn so với nhóm người bình thường là do tiêu thụ rượu thường xuyên sẽ làm dư thừa gốc tự do

(tạo ra trong quá trình chuyển hóa rượu tại tế bào gan và khả năng chống oxy hóa của gan suy giảm); lipopolysaccharide (LPS - nội độc tố được sản xuất bởi các vi khuẩn quá phát trong lòng ruột do tiếp xúc lâu ngày với ethanol) [1, 2]. Các gốc tự do và LPS kích hoạt tế bào Kuffer thông qua thụ thể CD14 trên bề mặt tế bào, sau đó hoạt hóa thụ thể Toll-like 4 (TLR4) và con đường truyền tín hiệu NF- κ B để tạo ra TNF- α và IFN β . TNF- α là cytokine có vai trò quan trọng trong đáp ứng viêm của cơ thể, là yếu tố duy trì phản ứng viêm lâu dài tại gan, từ đó gia tăng chết tế bào gan theo chương trình. Đồng thời, TNF- α còn hoạt hóa tế bào sao, chuyển dạng tế bào sao thành những tế bào giống nguyên bào sợi cơ (myofibroblast) để tạo ra collagen, fibronectine, acid hyaluronic..., từ đó gây xơ hóa gan và hậu quả cuối cùng là xơ gan [2, 3].

Sử dụng đường cong ROC để phân tích khả năng chẩn đoán xơ gan của TNF- α so với nhóm chứng, chúng tôi nhận thấy TNF- α huyết tương có khả năng chẩn đoán xơ gan do rượu với AUC là 0,68 (95%CI = 0,56 - 0,80). Tại điểm cắt 50,11 pg/mL, chẩn đoán xơ gan so với nhóm chứng có độ nhạy 42,2%, độ đặc hiệu 100%, giá trị tiên đoán dương 100% và giá trị tiên đoán âm là 53,6%, $p = 0,008$. Mặc dù cỡ

mẫu trong nghiên cứu còn nhỏ, mới chỉ so với nhóm người khỏe mạnh (không đối chứng với BN bệnh gan mạn tính chưa xơ gan) nhưng kết quả cho thấy tiềm năng của TNF- α huyết tương trong vai trò chẩn đoán xơ gan.

2. Giá trị nồng độ TNF- α huyết tương theo mức độ suy gan

Cho đến hiện nay thang điểm Child-Pugh vẫn là thang điểm được sử dụng rộng rãi nhất để đánh giá mức độ suy gan của bệnh gan mạn tính, từ đó giúp tiên lượng và lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy trung vị nồng độ TNF- α huyết tương tăng dần theo mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh, $p < 0,001$. Đồng thời, chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan thuận mức độ chặt giữa nồng độ TNF- α huyết tương với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,73$, $p < 0,001$).

Các nghiên cứu trên thế giới khảo sát nồng độ TNF- α huyết tương ở bệnh nhân xơ gan nói chung và xơ gan do rượu nói riêng đều cho kết quả tương tự nghiên cứu của chúng tôi như nghiên cứu của Sabry H.S. và CS (2015) cho thấy nồng độ TNF- α huyết tương tăng dần theo mức độ suy gan từ $25,75 \pm 4,81$ pg/mL ở nhóm BN xơ gan Child-Pugh A lên $64,75 \pm 27,34$ pg/mL ở nhóm xơ gan Child-Pugh C, $p < 0,001$ [7] hay nghiên cứu

của Prystupa A. và CS (2016) ở 62 BN xơ gan do rượu cũng cho kết quả tương tự [5]. Nghiên cứu 43 BN xơ gan do rượu, Zuwala-Jagiello J. và CS (2011) ghi nhận mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,28$; $p < 0,05$) [8].

Như vậy, kết quả các nghiên cứu đều cho thấy mức độ suy gan có ảnh hưởng đến nồng độ TNF- α huyết tương. Điều này là do TNF- α là cytokine không chỉ tham gia vào cơ chế gây xơ hóa gan mà còn liên quan đến mức độ thoái triển chức năng tế bào gan bởi TNF- α được tạo ra và được thanh thải tại gan nên suy gan càng nặng sẽ càng giảm khả năng thanh thải này. Ngoài ra, đáp ứng miễn dịch của cơ thể cũng kém khi chức năng gan giảm, từ đó làm quá phát vi khuẩn tại ống tiêu hóa, gia tăng nội độc tố hấp thu vào máu và kích thích tế bào Kupffer tăng sản xuất TNF- α [1, 2].

3. Giá trị của TNF- α trong đánh giá mức độ suy gan

Từ cơ chế bệnh sinh của quá trình xơ hóa gan và xơ gan do rượu có liên quan đến vai trò của TNF- α và mối liên quan giữa nồng độ TNF- α huyết tương với chức năng gan, chúng tôi cho rằng nồng độ TNF- α có thể được sử dụng để đánh giá mức độ suy gan ở BN xơ gan do rượu.

Chúng tôi lấy điểm cắt 7 để phân nhóm giữa xơ gan mức độ nhẹ (Child-Pugh A) và nhóm xơ gan vừa - nặng (Child-Pugh B/C). Kết quả trình bày ở bảng 5 và biểu đồ 2 cho thấy nồng độ TNF- α giúp chẩn đoán xơ gan Child-Pugh B/C ở mức tốt với AUC 0,99 (95%CI = 0,98 - 1,00), ở điểm cắt 15,36 pg/mL độ nhạy 93,9%, độ đặc hiệu 100% ($p < 0,001$). Salgihero S. và CS (2020) thực hiện một nghiên cứu mô tả, cắt ngang trên 97 BN xơ gan liên quan đến virus viêm gan C cũng cho thấy nồng độ TNF- α tương quan với mức độ nặng của bệnh theo thang điểm Child-Pugh và TNF- α có giá trị phân nhóm bệnh nhân xơ gan nhẹ (Child-Pugh A) với BN xơ gan vừa (Child-Pugh B) với AUC 0,63 (95%CI = 0,48 - 0,78) [9]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi mới chỉ là kết quả bước đầu, để có thể khẳng định được giá trị của nồng độ TNF- α huyết tương trong chẩn đoán mức độ suy gan, cần thực hiện với cỡ mẫu lớn hơn và thiết kế nhóm bệnh gan mạn tính chưa xơ gan.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu nồng độ TNF- α huyết tương ở 45 BN xơ gan do rượu so sánh với nhóm 30 người khỏe mạnh cùng tuổi, chúng tôi nhận thấy:

- Trung vị nồng độ TNF- α huyết tương ở bệnh nhân xơ gan do rượu là 34,6 pg/mL, cao hơn có ý nghĩa so với

chỉ số tương ứng ở nhóm chứng 13,3 pg/mL, $p = 0,021$ Nồng độ TNF- α huyết tương có giá trị chẩn đoán xơ gan với AUC là 0,68 (95%CI = 0,56 - 0,80).

- Nồng độ TNF- α huyết tương ở BN xơ gan do rượu có tương quan thuận mức độ chặt chẽ với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,73$, $p < 0,001$) và có giá trị chẩn đoán mức độ suy gan Child-Pugh B/C với AUC 0,99 (95%CI = 0,98 - 1,00), độ nhạy 93,9%; độ đặc hiệu 100% tại điểm cắt 15,36 pg/mL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang Y.M., Seki E. (2015). TNF alpha in liver fibrosis. *Curr Pathobiol Rep*; 3(4): 253-261.

2. Kawaratani H., Moriya K., Namisaki T., et al. (2017), Therapeutic strategies for alcoholic liver disease: Focusing on inflammation and fibrosis (Review). *International Journal of Molecular Medicine*; 40: 263-270.

3. Akriviadis E., Botla R., Briggs W., et al. (2000). Pentoxifylline improves short-term survival in severe acute alcoholic hepatitis: A double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*; 119: 1637-1648.

4. European Association for the Study of the Liver (2018). EASL Clinical Practice Guideline: Management

of alcohol - related liver disease. *Journal of Hepatology*; 69: 154-181.

5. Prystupa A., Kicinski P., Niedzialek J., et al. (2016). Circulating cytokeratin-18 and tumour necrosis factor- α in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*; 10(2): 87-90.

6. Mohammed B.J. (2018). Association between TNF- α level and TNF- α gene polymorphisms in liver cirrhosis of Iraqi patients. *Bioscience Research*; 15(2): 1342-1349.

7. Sabry H.S., El-Hendyd A.A.K., Mohammed H.I., et al. (2015). Study of serum tumor necrosis factor- α in patients with liver cirrhosis. *Menoufia Medical Journal*; 28(2): 525-531.

8. Zuwala-Jagiello J., Pazgan-Simon M., Simon K., et al. (2011), Advanced oxidation protein products and inflammatory markers in liver cirrhosis: A comparison between alcohol-related and HCV-related cirrhosis. *Acta Biochim Pol*; 58(1): 59-65.

9. Salguero S., Medrano L.M., et al. (2020), Plasma IP-10 and IL-6 are linked to Child-Pugh B cirrhosis in patients with advanced HCV-related cirrhosis: A cross-sectional study. *Sci Rep*; 10 (1): 10384.