

• 论 著 •

克拉玛依地区育龄期妇女抗缪勒管激素参考区间建立 及与性激素相关性探讨

王晓妹¹, 罗 超¹, 刘雅琳¹, 朱文秀¹, 王福刚¹, 宋兴勃², 何 詠^{2△}

1. 新疆维吾尔自治区克拉玛依市中西医结合医院(人民医院)检验科, 新疆克拉玛依 834000;

2. 四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041

摘 要:目的 建立克拉玛依地区育龄期妇女血清抗缪勒管激素(AMH)参考区间。方法 收集 2018 年 3 月至 2021 年 10 月克拉玛依市人民医院和克拉玛依市中心医院健康管理体检中心筛查 AMH 需求者 1 594 例, 纳入 1 498 例符合标准者, 用电化学发光法测定血清 AMH 水平; 其中 223 例研究对象(月经第 2~3 天)同时检测血清雌二醇(E2)、孕酮(Prog)、泌乳素(PRL)、睾酮(Test)、促卵泡生成激素(FSH)、促黄体生成激素(LH)水平, 选择第 2.5 百分位数($P_{2.5}$)和第 97.5 百分位数($P_{97.5}$)为 AMH 参考区间上下限。结果 育龄期妇女 AMH 水平随年龄增加而递减; 分别为: 20~24 岁 1.16~10.95 ng/mL、>24~29 岁 1.03~10.53 ng/mL、>29~34 岁 0.49~7.98 ng/mL、>34~39 岁 0.25~6.41 ng/mL、>39~44 岁 0.12~4.91 ng/mL、>44~49 岁 0.01~2.23 ng/mL、>49 岁 <0.74 ng/mL。AMH 与 LH、Test 在 >24~29 岁年龄段存在显著正相关($P<0.05$); 在 >29~34 岁年龄段, AMH 与 FSH 呈显著负相关($P<0.05$), 与 Test 呈显著正相关($P<0.05$); 在 >39~44 岁年龄段 AMH 与 FSH、LH 均呈显著负相关($P<0.05$); 在 >34~39 岁和 >44~49 岁年龄段, AMH 与六项性激素均无相关性。结论 建立的育龄妇女 AMH 的参考区间能够满足临床需求, 与性激素联合检测、分析, 对育龄妇女相关疾病提供合理依据。

关键词: 抗缪勒管激素; 育龄妇女; 参考区间; 性激素

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.022

中图法分类号: R711.75

文章编号: 1673-4130(2022)17-2156-05

文献标志码: A

Establishment of reference interval of anti-Mullerian hormones in women of childbearing age in Karamay area and its correlation with sex hormones

WANG Xiaomei¹, LUO Chao¹, LIU Yalin¹, ZHU Wenxiu¹, WANG Fugang¹,
SONG Xingbo², HE He^{2△}1. Department of Clinical Laboratory, Karamay Hospital of Integrated Traditional Chinese and
Western Medicine(Karamay People's Hospital), Karamay, Xinjiang 834000, China;2. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital,
Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: **Objective** To establish the reference interval of serum anti-mullerian hormone (AMH) in women of childbearing age in Karamay area. **Methods** Totally 1 594 women in need of AMH were screened in the Health Management Physical Examination Center of Karamay People's Hospital and Karamay Central Hospital from March 2018 to October 2021, and 1 498 women meeting the criteria were included. Serum AMH level was determined by electrochemiluminescence. Serum levels of estradiol (E2), progesterone (Prog), prolactin (PRL), testosterone (Test), follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) were detected in 223 women on the 2nd to 3rd day of menstruation. The 2.5th percentile ($P_{2.5}$) and 97.5 percentile ($P_{97.5}$) were selected as the upper and lower limits of the AMH reference intervals. **Results** The level of AMH decreased with the increase of age. The level of AMH of 20–24 year-old women was 1.16–10.95 ng/mL, that of >24–29 year-old women was 1.03–10.53 ng/mL, that of >29–34 year-old women was 0.49–7.98 ng/mL, that of >34–39 year-old women was 0.25–6.41 ng/mL, that of >39–44 year-old women was 0.12–4.91 ng/mL, that of >44–49 year-old women was 0.01–2.23 ng/mL and >49 year-old women was <0.74

ng/mL. There were significant positive correlations between AMH and LH and Test in $>24-29$ year-old women ($P<0.05$). In $>29-34$ year-old women, AMH was significantly negatively correlated with FSH ($P<0.05$), and was significantly positively correlated with Test ($P<0.05$). There were significant negative correlations between AMH and FSH and LH in $>39-44$ year-old women ($P<0.05$). There was no correlation between AMH and six sex hormones in $>34-39$ and $>44-49$ year-old women. **Conclusion** The established reference interval of AMH in women of childbearing age could meet the clinical needs, and provide a reasonable basis for the related diseases of women of childbearing age with the combined detection and analysis of sex hormones.

Key words: anti-Mullerian hormone; women of childbearing age; reference interval; sex hormones

评估生育力依靠传统指标如年龄、基础性激素水平如促卵泡刺激素 (FSH) 和雌二醇 (E2)、抑制素 (INH)、卵泡计数 (AFC) 等面临很多弊端: 由于采集时间窗局限 (月经第 2~4 天采集)、青春期无法经阴道测量 AFC、性激素检测标本周转时间长等导致患者依从性差; AFC 受操作者主观因素影响结果一致性, 不能准确反映卵巢的状态等。抗缪勒管激素 (AMH) 是由卵泡颗粒细胞分泌的二聚体糖蛋白, 是反映卵巢储备功能的指标, 它的水平不受下丘脑-垂体-性腺轴干扰, 不随性激素波动而影响, 在月经周期中分泌量相对稳定, 可随时采集检测^[1]。AMH 能够精准反映卵巢储备能力, 因相对稳定的分泌量, 能够在卵巢轻度受损时及早评估^[2]。

目前 AMH 采用的参考区间, 大多参照试剂供应者提供的海外人群数据, 不适合本土人群, 本项目与试剂说明书中位数及参考区间比较, 差异均有统计学意义。第五版《临床检验操作规程》暂未提供血清 AMH 参考区间, 根据 ISO15189:2003 (E) 标准的要求, 实验室必须为临床诊疗提供适宜本地区检验项目的参考区间, 这是本研究开展的前提。参照美国临床和实验室标准化研究所 (CLSI) C28~A3 文件和我国行业标准《临床实验室检验项目参考区间的制定》(WS/T 402.2012) 要求^[3] 初步建立本地 AMH 参考区间, 探讨 AMH 与其他多种性激素之间关系, 为临床辅助生殖、内分泌疾病诊治等提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 3 月至 2021 年 10 月来自新疆维吾尔自治区克拉玛依市中西医结合医院 (下称本院) 健康体检的 1 594 例育龄期妇女为研究对象。纳入标准: (1) 血脂、血糖水平均正常的健康未孕妇女; (2) 月经规律、月经周期 21~35 d; (3) 克拉玛依地区生活时间达到 1 年以上。排除标准: 近 3 个月服用激素类药物 (如避孕药); 患有妇科疾病 (子宫内膜异位症、不孕症、卵巢功能低下等); 有卵巢手术、子宫肌瘤手术等妇科类手术史; 肝肾疾病、消化道疾病; 患有多囊卵巢综合征、甲状腺功能异常等内分泌疾病; 有

放射治疗或化学治疗史。

根据纳入和排除标准, 剔除 96 例, 最终纳入 1 498 例, 年龄 20~54 岁, 平均 (32.7 ± 3.6) 岁; 以其中处于月经周期第 2~3 天 223 例受试者作为检测对象, 年龄 25~49 岁, 平均 (35.1 ± 2.9) 岁。本研究取得本院医学科研伦理委员会的批准, 符合伦理学标准。

1.2 材料

1.2.1 检测项目 1 498 例均检测 AMH; 其中 223 例月经周期第 2~3 天检测性激素六项: E2、FSH、泌乳素 (PRL)、促黄体生成素 (LH)、睾酮 (Test)、孕酮 (Prog)

1.2.2 仪器与试剂 罗氏全自动电化学发光免疫分析仪 (Cobas e601, Roche, Germany) 定期校准, 检测项目通过国家卫生健康委临床检验中心室间质评, 室内质控在控。两家检测实验室 (克拉玛依市人民医院和克拉玛依市中心医院) 检测项目通过相关偏移评估, AMH 重复性 $CV<3.9\%$, 室间不精密度 $<6.2\%$, 符合 CLSI 中 EP5-A2 偏移评估要求。AMH、FSH、E2、PRL、LH、Test 和 Prog 检测试剂盒、校准品、质控品均为罗氏原装配套。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与处理 干燥真空管采空腹静脉血 4 mL, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 4 h 内上机检测。

1.3.2 建立 AMH 参考区间 将 1 498 例研究对象按每间隔 5 岁为一组, 共分为 7 组: 20~24 岁、 $>24-29$ 岁、 $>29-34$ 岁、 $>34-39$ 岁、 $>39-44$ 岁、 $>44-49$ 岁和 >49 岁。检测血清 AMH 水平, 选择第 2.5 百分位数 ($P_{2.5}$) 和第 97.5 百分位数 ($P_{97.5}$) 为参考区间上下限。

1.3.3 相关性分析 AMH 与性激素 E2、PRL、FSH、LH、Test、Prog 水平各年龄组进行相关性分析。

1.3.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对所得数据进行正态分布及方差齐性检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用直线回归以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义; 非正态分布的数据以 M

($P_{2.5} \sim P_{97.5}$) 表示; AMH 与性激素水平的相关性用 Spearman 分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 AMH 水平与年龄相关性趋势 以年龄为 X 轴, AMH 水平为 Y 轴做箱式图, 结果显示 AMH 水平随年龄增大呈现下降趋势, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1。

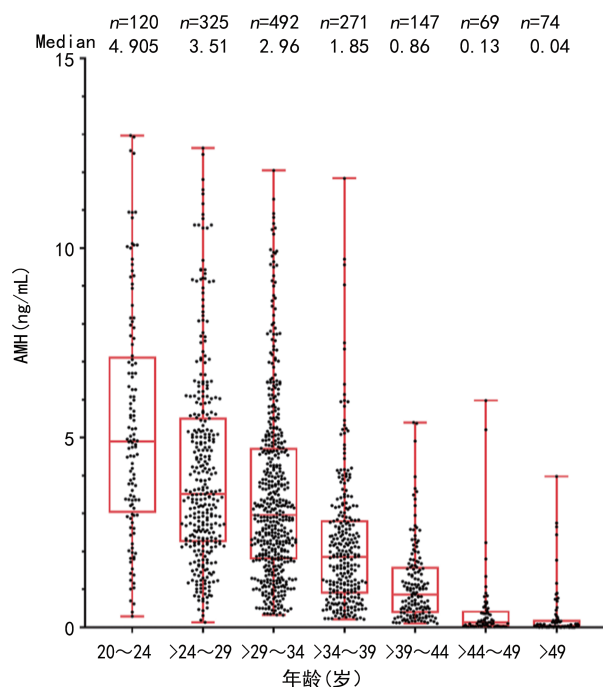


图 1 AMH 各年龄段水平分布

2.2 本项目各年龄段参考区间水平与试剂厂商供给

的参考区间比较 除 $>24 \sim 29$ 岁年龄段外, 余各年龄段 AMH 水平均低于厂商所供参考区间, 各组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 本项目与试剂说明书参考区间比较 (ng/mL)

年龄段 (岁)	本项目		说明书		P
	中位数	参考区间	中位数	参考区间	
20~24	4.91	1.16~10.95	4.00	1.22~11.70	<0.05
>24~29	3.51	1.03~10.53	3.31	0.89~9.85	<0.05
>29~34	2.96	0.49~7.98	2.81	0.576~8.13	<0.05
>34~39	1.85	0.25~6.41	2.00	0.147~7.49	<0.05
>39~44	0.86	0.12~4.91	0.88	0.027~5.47	<0.05
>44~49	0.13	0.01~2.23	0.19	0.01~2.71	<0.05
>49	0.04	$<0.01 \sim 0.74$	—	—	—

注: — 表示无数据。

2.3 月经期 223 例受试者各年龄段 AMH 和性激素水平检测结果及 AMH 水平与性激素的相关性 月经期 AMH 水平随着年龄增长逐渐降低, 见表 2。AMH 与 LH 在 $>24 \sim 29$ 岁年龄段呈显著正相关 ($P < 0.05$), 在 $>39 \sim 44$ 岁年龄段呈显著负相关; AMH 与 FSH 在 $>29 \sim 34$ 岁、 $>39 \sim 44$ 岁年龄段均呈显著负相关; AMH 与 Test 在 $>24 \sim 29$ 岁、 $>29 \sim 34$ 岁年龄段均呈显著正相关 ($P < 0.05$)。AMH 与六项性激素在 $>34 \sim 39$ 岁、 $>44 \sim 49$ 岁年龄段均无相关性 ($P > 0.05$), 与 E2、PRL、Prog 在所有年龄段均无相关性 ($P > 0.05$)。见表 2、3, 图 2。

表 2 月经期 AMH 和性激素水平在各年龄段检测结果 [$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]

指标	>24~29 岁 (n=67)	>29~34 岁 (n=61)	>34~39 岁 (n=40)	>39~44 岁 (n=33)	>44~49 岁 (n=22)
AMH(ng/mL)	4.23(2.52~6.46)	3.78(2.02~5.07)	1.62(0.74~2.79)	0.52(0.08~1.33)	0.17(0.02~0.63)
E2(ng/L)	42.36(30.24~57.95)	47.73(29.98~75.30)	50.27(30.03~88.71)	41.39(18.57~97.00)	57.38(19.31~74.55)
FSH(IU/L)	6.65(5.08~7.63)	6.44(5.24~7.99)	6.26(5.18~8.77)	7.44(6.21~19.79)	14.25(7.52~21.63)
LH(IU/L)	6.32(4.19~8.63)	5.71(4.32~7.56)	5.22(2.31~6.46)	7.41(3.43~14.29)	6.66(4.06~15.96)
PRL(μ g/L)	19.52(12.11~27.20)	18.74(11.15~24.92)	15.58(12.64~20.37)	13.53(8.86~20.05)	15.07(10.69~22.14)
Prog(μ g/L)	0.16(0.010~0.25)	0.19(0.09~0.33)	0.21(0.08~0.39)	0.10(0.05~0.19)	0.12(0.08~0.25)
Test(μ g/L)	0.27(0.18~0.40)	0.24(0.14~0.33)	0.20(0.14~0.33)	0.19(0.11~0.31)	0.17(0.12~0.22)

表 3 月经期各年龄段 AMH 水平与性激素的相关性

性激素	>24~29 岁		>29~34 岁		>34~39 岁		>39~44 岁		>44~49 岁	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
E2	0.026 8	0.829 8	0.242 4	0.185 5	-0.183 7	0.058 5	0.052 6	0.777 1	0.204 0	0.362 6
FSH	-0.074 5	0.548 8	-0.387 2	0.002 1	-0.203 4	0.208 2	-0.354 3	0.043 1	-0.273 7	0.217 8
LH	0.4153	0.000 5	0.218 8	0.090 3	-0.161 9	0.318 3	-0.355 5	0.042 3	-0.264 6	0.234 1
PRL	-0.189 3	0.125 0	0.154 3	0.238 0	-0.007 1	0.965 5	-0.008 3	0.793 7	0.055 9	0.804 7
Prog	0.137 7	0.629 1	0.213 7	0.698 8	-0.204 0	0.135 0	-0.036 7	0.839 2	0.063 6	0.902 2
Test	0.488 6	$<0.000 1$	0.402 9	0.001 3	0.101 9	0.531 6	-0.009 1	0.960 1	0.051 3	0.820 7

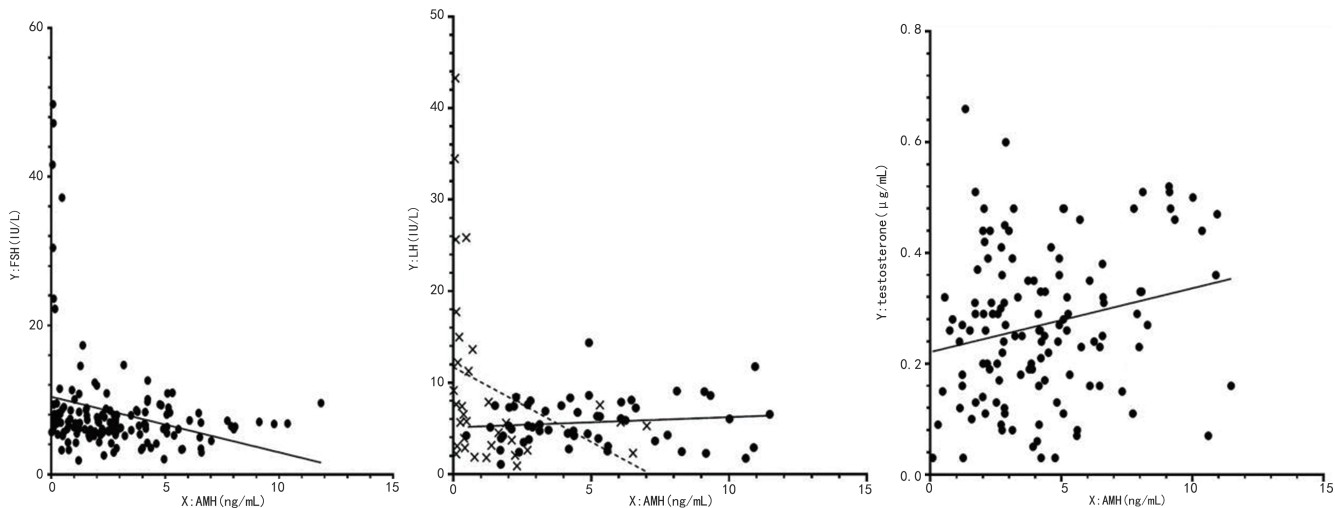


图 2 AMH 与 FSH、LH、Testo 各项分析

2.4 各年龄段 AMH 参考区间值 正态性检验显示 AMH 数据不符合正态分布,呈偏态分布故采用双侧限值 $[M(P_{2.5} \sim P_{97.5})]$ 建立本地区健康育龄女性 AMH 参考区间。各年龄组女性 AMH 水平分布均为偏态分布,20~24 岁、>24~29 岁、>29~34 岁、>34~39 岁、>39~44 岁、>44~49 岁、>50 岁血清 AMH 参考区间分别为 1.16~10.95、1.03~10.53、0.49~7.98、0.25~6.41、0.12~4.91、0.01~2.23、<0.01~0.74 ng/mL,见表 4。

表 4 育龄女性 AMH 各百分位数水平、参考区间 (ng/mL)

年龄段(岁)	n	$P_{2.5}$	P_5	P_{50}	P_{95}	$P_{97.5}$
20~24	120	1.16	1.24	4.905	9.71	10.95
>24~29	325	1.03	1.12	3.51	7.07	10.53
>29~34	492	0.49	0.61	2.96	7.10	7.98
>34~39	271	0.25	0.32	1.85	5.33	6.41
>39~44	147	0.12	0.15	0.86	2.95	4.91
>44~49	69	0.01	0.01	0.13	1.80	2.23
>49	74	<0.01	<0.01	0.04	0.52	0.74

3 讨 论

实验室制定适宜本地区的参考区间是临床诊断、评估、治疗及预后评判的重要依据。国内部分地区已建立符合当地诊断要求的参考区间^[4-6],既往报道 AMH 因为年龄、种族、遗传基因及地区差异而显示不同的变化^[7-8]。克拉玛依是一个多民族聚居的地区,少数民族人口占比为 25.20%,年龄分布中 15~59 岁占比为 71.60%,因此建立适宜本地区 AMH 参考区间很有必要的。

研究证明,AMH 是抑制静态卵泡募集和幼稚卵泡发育的主要因子之一,可以预测生长卵泡数量。临床使用 AMH 作为功能性卵巢储备力的标志物,可以更灵敏、准确地预测妇女卵巢储备的变化^[9-10],本研究

结果显示,AMH 衰退速度较 FSH 增高的速度更快,能够更早、更快地反映出卵巢功能的变化,这与魏景蕊等报道^[11]一致,即 ROC 曲线分析显示,单一指标预测卵巢反应性时 AMH 的曲线下面积最大。

本研究中 AMH 水平各年龄段分布,显示年龄与女性生育力标志 AMH 呈负相关。这与国内多省报道及国外部分研究报道结论一致^[2,12-13]。另外,AMH 水平也存在显著个体差异,研究中存在 29 岁体检者 AMH 0.88 ng/mL 及 48 岁体检者 AMH 5.21 ng/mL 的情况。各年龄段 AMH 水平差异均明显,与朱童等^[4]报道一致。本研究显示 25~39 岁年龄阶段女性生育力评估达 72.63%,这可能与当前生育政策的调控相关。本研究中参考区间的年龄划分方式(每组间隔 5 岁),与杨永俊等^[1]报道的河南地区参考区间划分方式相一致,较丰琳等^[14]报道的黄冈市区参考区间划分(每组间隔 10 岁)方式更细致,方便临床应用。依据 CLSI C28-A3 文件规定,建立参考区间各亚组例数应大于 120 例,而本研究中>44~49 岁组仅 69 例、>49 岁组 74 例,均未达到 120 例,可能会导致统计结果出现偏差。本研究各年龄段 AMH 参考区间水平均低于上海地区人群 AMH 参考区间水平^[15],这可能与地域、族别、生活水平、饮食习惯与营养状况、体质指数(BMI)差异相关,同时因抽样人群分布偏差、检测方法不同也可能导致结果出现差异。本研究使用电化学发光法检测各项目,说明书中描述对常见干扰因素如黄疸、溶血、乳糜血等物质抗干扰能力较强。国外有文献报道^[16-17]一些口服避孕药(COC)会造成 AMH 检测水平一过性降低,不建议在使用 COC 期间及停药 2 个月内检测 AMH。

本研究结果显示,不同年龄段 Test 水平有差异,月经期各年龄段 AMH 水平与 E2、PRL 和 Prog 无相关性,而与 LH、Test 在>24~29 岁年龄段均呈显著

正相关($P < 0.05$);仅 $>29 \sim 34$ 岁年龄段,AMH 与 FSH 呈显著负相关($P < 0.05$),AMH 与 Test 呈显著正相关($P < 0.05$);在 $>39 \sim 44$ 岁年龄段 AMH 与 FSH、LH 均呈显著负相关($P < 0.05$),这与贺侠琴等报道的“正常对照组 AMH 水平与睾酮、LH、FSH 和 E2 水平无相关性”^[18]及徐慧玉等报道“AMH 水平与 E2 和 Test 负相关”^[19]结果均不同。这可能是因为不同报道中划分年龄段差异所致,故更精细的年龄段是本研究的优势。同时,因克拉玛依地区是依托油田而形成的城市,属多民族聚居,人群中存在地域、基因(民族)差异、生活习俗差异,这也可能导致研究对象的激素基础水平不同,从而导致研究结果出现不一致。

综上所述,本研究显示女性 AMH 水平与年龄呈负相关。使用电化学发光法建立的克拉玛依地区育龄女性 AMH 参考区间、AMH 与性激素不同年龄段相关性分析,有助于客观评估本地区健康育龄期妇女卵巢储备能力,为临床诊疗提供依据,也为其他地区建立 AMH 参考区间提供借鉴依据。

参考文献

- [1] 杨永俊,王梦娅,曹丽幸,等. 河南地区 20~34 岁育龄女性血清抗苗勒管激素参考区间的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(10): 921-925.
- [2] CHENG X, ZHANG Q, LIU M, et al. Establishing age-specific reference intervals for anti-Müllerian hormone in adult Chinese women based on a multicenter population [J]. Clin Chim Acta, 2017, 474: 70-75.
- [3] 段敏,赵海建,王薇,等. 临床检验项目参考区间验证的建议[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(3): 204-206.
- [4] 莫凤明,屈春风,韦福庆,等. 不同年龄段育龄妇女血清抗苗勒氏管激素水平及参考值的建立[J]. 广西医学, 2020, 42(12): 1553-1555.
- [5] 朱童,张雷,石喜习,等. 31~40 岁健康体检女性 AMH 参考范围及与常规性激素的相关研究[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(11): 1472-1476.
- [6] 岳朝艳,段朝晖,章迪,等. 磁微粒吡啶酯化学发光法检测 AMH 的性能评估及成年女性 AMH 参考区间的建立[J]. 检验医学, 2021, 36(1): 95-100.
- [7] GLEICHER N, KIM A, WEGHOFFER A, et al. Differences in ovarian aging patterns between races are associated with ovarian genotypes and sub-genotypes of the FMR1 gene[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2012, 10: 77.
- [8] YUE CY, WU Y, DUAN CH, et al. Performance evaluation of a fully automated anti-mullerian hormone immunoassay and multicentre study on the establishment of reference range in adult women[J]. Ann Clin Biochem, 2020, 57(2): 170-177.
- [9] MOOLHUIJSEN L M E, VISSER J A. Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve: update on assessing ovarian function[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(11): 3361-3373.
- [10] 张洪,陆丽芳,梁珊. 生育期女性血清抗苗勒管激素与年龄及性激素水平的相关性分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2018, 26(5): 386-389.
- [11] 魏景蕊,袁巾惠,白晶莹,等. 评估卵巢储备功能的常用指标对预测卵巢反应性的价值比较[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(1): 27-32.
- [12] JACKIE F, JASON H, PETER R, et al. Establishment of a WHO reference reagent for anti-Müllerian hormone[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2020, 18(1): 86.
- [13] 张波,唐芳,史育红,等. 成都地区 25~35 岁育龄期女性血清 AMH 参考区间的建立[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(6): 996-1000.
- [14] 丰琳. 黄冈市区育龄妇女抗苗勒管激素参考区间的建立[J]. 中国医学创新, 2021, 18(4): 49-53.
- [15] 武辰雨,陆钰唯,黄一杰,等. 上海地区育龄期健康女性血清抗苗勒管激素参考区间的建立[J]. 上海交通大学学报, 2020, 40(11): 1485-1488.
- [16] LANDERSOE S K, FORMAN J L, PETERSEN K B, et al. Ovarian reserve markers in women using various hormonal contraceptives[J]. Eur J Contracept Reprod Health Care, 2019, 25(1): 1-7.
- [17] LANDERSOE S K, PETERSEN K B, SRENSSEN A L, et al. Ovarian reserve markers after discontinuation of long-term use of combined oral contraceptives[J]. Reprod Biomed Online, 2020, 40(1): 176-186.
- [18] 贺侠琴,孙桂荣,王汝琨,等. 血清抗苗勒管激素与性激素联合检测对多囊卵巢综合征的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(6): 456-461.
- [19] 徐慧玉,冯瑛,曾琳,等. 育龄女性月经周期内及周期间血清抗苗勒管激素水平的变化研究[J]. 实用妇产科杂志, 2017, 33(5): 358-362.

(收稿日期:2021-12-25 修回日期:2022-04-11)