

肺间质纤维化的中西医研究现状

吴宝森^{1*}, 李旭成^{2#}

¹湖北中医药大学中医临床学院, 湖北 武汉

²湖北中医药大学附属国医医院/武汉市中医医院急诊科, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年4月4日; 录用日期: 2023年5月15日; 发布日期: 2023年5月25日

摘要

肺间质纤维化作为一种炎症性疾病, 以肺间质、肺泡上皮细胞和肺血管为主要病变部位。肺间质纤维化在后期往往发展为肺动脉高压, 甚至会导致右心室衰竭的出现。但是目前临床上选用的西药副作用较大, 且治疗效果局限。而中药治疗肺间质纤维化副作用较少, 疗效可靠, 目前在临床上发展空间较大。本文将通过检索近15年对肺间质纤维化的中西医研究, 做出以下综述。

关键词

肺间质纤维化, 肺痿, 实验研究, 治疗

Research Status of Chinese and Western Medicine on Pulmonary Interstitial Fibrosis

Baosen Wu^{1*}, Xucheng Li^{2#}

¹Clinical College of Traditional Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan

²Department of Emergency, Hubei University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital/Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan Hubei

Received: Apr. 4th, 2023; accepted: May 15th, 2023; published: May 25th, 2023

Abstract

Pulmonary interstitial fibrosis, as an inflammatory disease, mainly involves pulmonary interstitial, alveolar epithelial cells and pulmonary vessels. Pulmonary interstitial fibrosis often progresses to pulmonary hypertension in later stages and can even lead to right ventricular failure. However,

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 吴宝森, 李旭成. 肺间质纤维化的中西医研究现状[J]. 中医学, 2023, 12(5): 1057-1063.

DOI: 10.12677/tcm.2023.125160

the Western drugs used in clinical practice have great side effects and limited therapeutic effects. However, traditional Chinese medicine in the treatment of pulmonary interstitial fibrosis has fewer side effects and reliable efficacy, and has a large clinical development space at present. This paper will make the following review by searching the recent 15 years of Chinese and Western studies on pulmonary interstitial fibrosis.

Keywords

Pulmonary Interstitial Fibrosis, Pulmonary Impotence, Experimental Research, Treatment

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 肺间质纤维化的中医研究

1.1. 病因病机

肺间质纤维化在古代医籍中未有此病名,然现世医家多将此疾病归属于肺痿、肺痹一类。其病因病机,主要是本虚标实,肺脾肾亏虚为本,痰瘀毒等实邪阻络为标。李建生教授[1]认为,肺痿主要病机有三,一为阴虚与燥热并存于肺脏,肺气受损后出现气阴两虚,进一步导致肺气虚冷,阴虚燥热与肺气虚冷并存;二为肺气受损之后,卫外功能失司,进一步导致外邪乘虚内陷;三为气虚、阴虚导致运行及濡养血脉功能受损,出现血瘀。张之文教授[2]认为,肺痿早期为肺胃气阴两虚,肺络瘀阻,中期为肺脾气虚,痰瘀阻滞,后期为肺肾阳虚,瘀毒内盛,其中瘀血贯穿始终。

1.2. 中药复方治疗

1.2.1. 麦门冬汤

麦门冬汤出自《金匱要略》,可以降逆下气,滋阴清肺,用于肺痿之气阴两虚。大量实验研究证明[3],麦门冬汤具有抗炎、调节氧化-抗氧化机制、抑制促纤维化因子、促进骨髓间充质干细胞的分化等功效。朱明亭[4]等人的实验表明,相较于使用乙酰半胱氨酸胶囊的对照组,研究组加服麦门冬汤后,肺功能显著提高,临床症状改善更加明显。

1.2.2. 补阳还五汤

出自《医林改错》的补阳还五汤,是理血剂的代表方,可补气活血通络,用于肺痿之气虚血瘀。现代药理学发现[5],补阳还五汤可以调节免疫、抗炎、抗氧化以及抗血小板聚集。杨晗[6]等人将肺纤维化大鼠分为6组,经病理切片后观察肺泡炎症及肺组织纤维化程度,结果发现补阳还五汤可以有效控制肺指数的增长,同时对大鼠早期的肺泡炎和中后期的肺纤维化也有抑制作用。

1.2.3. 补肺汤

补肺汤出自《永类铃方》,具有补肺益气,止咳平喘之功,用于肺痿属虚症者。现代药理学实验表明[7],补肺汤可以通过调节炎症反应、调节机体的免疫失衡、调节氧化应激反应、调节蛋白酶与抗蛋白酶失衡以及参与细胞自噬等功效治疗患者呼吸系统的疾病。唐文君[8]等人予以补肺汤合血府逐瘀汤治疗肺纤维化患者,4周后发现补阳还五汤对患者的FVC、DLCO和PaO₂改善作用显著,可以有效提高对肺纤维化患者的治疗总有效率。

1.3. 中药提取物治疗

1.3.1. 黄芪

黄芪中单体活性成分有 20 多种, 在特发性肺纤维化中应用较广。栾智华[9]等人的实验表明, 黄芪甲苷具有抑制大鼠 VEGF 基因的功效, 从而对肺部纤维化微血管的生成起到干预作用, 减轻肺纤维化的症状。王鹏飞[10]等人通过研究发现, 黄芪总黄酮通过抑制 TGF- β 1/smads 信号通路的激活, 进一步阻止上皮间质转分化的出现, 产生治疗肺纤维化的作用。

1.3.2. 丹参

丹参酮作为丹参提取物, 田淑霞[11]等人对肺纤维化大鼠进行研究, 发现丹参酮可以调控大鼠肺组织中 UPA 与 PAI-1 之间的平衡, 同时减少蛋白累积, 从而对肺纤维化的发展产生延缓作用。李响[12]等人通过研究发现, 丹参酮 IIA 可以通过激活 Nrf2/Nox4 通路, 从而减轻脂多糖诱导的小鼠的肺纤维化程度。

1.3.3. 黄芩

黄芩苷和黄芩多糖是中药黄芩的主要活性成分, 王清华[13]等人将肺纤维化大鼠注射黄芩苷后进行病理切片, 发现黄芩苷可以调控转化生长因子- β 1/Smad 信号通路中的转化生长因子- β 1, 改善炎症反应和细胞外基质的沉积, 对肺纤维化的发展产生抑制作用。蔡健[14]等人将大鼠分为对照组、模型组、泼尼松阳性对照组、黄芩总黄酮高剂量组和黄芩总黄酮低剂量组。给药 28 天后发现, 黄芩总黄酮组大鼠血清中的总抗氧化能力(T-AOC)和还原性谷胱甘肽(GSH)均升高, 髓过氧化物酶(MPO)的水平显著降低, 明显改善了大鼠的纤维化程度($P < 0.05$)。

1.4. 中医外治法

1.4.1. 灸法

艾灸可补肺气之虚, 通肺络之滞, 对肺纤维化属肺气亏虚、痰瘀阻滞者疗效较好。陈丽[15]等人对肺纤维化大鼠予以艾灸肺俞、膏肓俞治疗 35 天后观察到, 艾灸可以通过调节 E-cad 基因对肺纤维化的发展产生抑制作用, 且疗程与治疗效果成正比。杨善军[16]等人将艾灸联合肺经通络方治疗肺纤维化大鼠, 发现通过 NF- κ B/TGF- β 1/smads 3 通路, 大鼠的炎症指标及氧化应激指标得以改善。

1.4.2. 中药注射剂

沈岩[17]将肺纤维化患者随机分为试验组和对照组, 对照组口服黄芪颗粒和百令胶囊, 试验组在此基础上增加黄芪注射液, 注射中府、肺俞、太渊、定喘等穴位。治疗 3 个月后, 观察发现, 试验组的肺功能指标、炎症因子、临床总有效率等均优于对照组。

2. 肺间质纤维化的西医研究

肺间质纤维化临床上以特发性肺纤维化(IPF)为多见, IPF 的发病率近年来呈现出逐渐上升的趋势, 其病死率随年龄增长而增加, 其病因目前尚未明确, 是呼吸系统疾病中的一大难题, 2018 年 5 月, 卫健委颁布了一个涉及 121 种疾病的《第一批罕见病目录》, IPF 便是其中之一。IPF 初期以呼吸困难和劳力性呼吸困难为主要临床表现, 部分患者出现咳嗽、咳痰。若治疗不及时, 患者便会

出现呼吸困难、口唇紫绀等, 当 IPF 病进展到后期阶段时, 患者甚至会出现缺氧、呼吸性酸中毒, 严重者可导致死亡[18]。

2.1. 病理生理改变

IPF 的主要特征是间质、远端气道和肺泡空间的重塑, 其主要病理变化是蜂窝状囊肿、成纤维细胞

灶和增生的上皮细胞的形成[19]。IPF 发病在肺部, 发病机制是在炎性细胞的作用下, 肺间质成纤维细胞不断增值, 大量的细胞外基质被分泌出来, 导致肺部结构重塑, 产生瘢痕化, 肺功能也不断下降, 最后的结局往往是出现呼吸衰竭[20]。

2.2. 西医内科治疗

2.2.1. 糖皮质激素联合 N-乙酰半胱氨酸

糖皮质激素通过抗炎、免疫抑制可缓解炎症, N-乙酰半胱氨酸(Nac)可溶解痰液, 改善气道环境, 还具有抗炎、抗氧化等作用[21]。临床上单一采用糖皮质激素或 Nac 疗效不显著, 并且会使得原有基础疾病加重, 如糖尿病、心脑血管病等等。因此将小剂量糖皮质激素与 Nac 联合使用, 可以更好的发挥疗效。既有强大的抗炎作用, 又能对气道重构产生抑制作用[22]。杨雪梅[23]等人的实验显示, 小剂量甲泼尼龙连用 Nac 相比于单用 Nac 组, 联合用药可延缓 PaO₂ 的下降速度, 并且患者症状改善更加明显。陈焕莘[24]将 78 名慢性阻塞性肺疾病合并 IPF 分为常规组和联合组。常规组予以甲泼尼龙, 联合组予以甲泼尼龙和 Nac 联合用药。治疗后, 联合组的炎性因子水平和肺功能改善更明显, 临床疗效更好。

2.2.2. 抗纤维化治疗

吡非尼酮(PFD)和尼达尼布是目前常用的两种抗纤维化药物。PFD 可以产生多种效应治疗 IPF, 主要有抗炎、抗纤维化、抗氧化, PFD 可以清除活性氧族, 从而产生抗纤维化的作用[25]。魏桂莲[26]等人的实验表明, 相较于常规内科治疗组, 在常规内科治疗上加服 PFD 的患者, 病情改善更为明显, 而病情缓解主要就是 PFD 阻断了活性氧激活的多种通路, 产生了抗纤维化的功效。尼达尼布对肺纤维化的缓解作用主要是通过抑制多种促纤维化细胞因子和生长因子, 从而延缓其发展, 如抑制血小板衍生生长因子、成纤维细胞生长因子(FGF)、结缔组织生长因子(CTGF)以及血管内皮生长因子(VEGF)的活性[27]。王帅[28]等人将 144 名 IPF 患者分为对照组和观察组, 对照组予以对症支持治疗, 观察组在此基础上加服尼达尼布, 24 个月后, 观察组肺功能和肺纤维化缓解更为明显。

2.2.3. 抑酸治疗

近年来, 越来越多的研究发现, IPF 患者常常合并胃食管返流[29] [30], 这可能与跨膈压增加、胸内负压增加等因素有关。研究发现, 对肺纤维化患者采取抑酸治疗可延长其生存期[31]。针对胃食管反流采取抑酸治疗, 可以降低 IPF 患者急性加重次数, 降低其死亡率[32]。

2.2.4. 干细胞治疗

间充质干细胞(MSCs)有抗增值、免疫调节、促进上皮组织修复能力等功效[33]。MSCs 通过对肺组织的抗炎作用, 可以减少胶原蛋白沉积和细胞外基质的产生, 从而减少支气管肺泡灌洗液中炎症标志物, 可以显著提高 IPF 患者的存活率。MSCs 面临肺组织受损的情况时, 可以分泌大量的生物活性分子, 产生抗炎功效, 抑制纤维增值, 增强内源性损伤抵抗力, 进而促进肺泡上皮细胞的再生[34]。经研究[35], 采用高累积剂量的同种异体 MSCs 治疗 IPF 患者, 治疗 52 周后, 患者的肺功能有所缓解, 临床症状明显改善。

2.3. IPF 的非药物治疗

2.3.1. 肺移植

肺移植手术是目前唯一一个被临床认可的可以治疗 IPF 的有效手段, 对于终末期 IPF 患者, 肺移植是首选治疗方法, 也是唯一一个可以提高患者寿命的方法[36]。但是肺移植患者存活率低于其他器官移植患者, 主要是由于慢性排斥反应的发生, 因此要重视围手术期管理和免疫抑制[37]。

2.3.2. 肺康复

针对 IPF 患者的肺康复方案包括运动训练、呼吸训练、心理治疗、中医传统治疗以及健康宣教, 如柔韧性训练、练习太极拳和五禽戏、音乐放松疗法等等[38]。

如曾明耀[39]对 28 例 IPF 患者进行鼻深吸气 - 屏气 - 慢呼气法的锻炼, 2 月后发现患者的炎症指标及纤维化程度较前明显改善。丁琳[40]将 89 例 IPF 患者分为试验组和对照组, 对照组予以常规护理, 试验组在此基础上进行呼吸功能锻炼、情志调节、中医饮食指导、贴耳针、练习太极拳等等。结果发现, 经过中医特色护理后, 试验组各项指标优于对照组, 并且患者症状有明显改善。研究发现[41], 与未进行肺康复锻炼的患者相比, 经过康复训练的 IPF 患者呼吸困难、运动能力明显改善, 焦虑情绪有所减低, 生活质量得到了显著提高。

3. 总结

综上所述, 从中医角度分析, IPF 的基本病机是本虚标实, 中药复方、中药提取物、艾灸和中药注射等对此均有不错的疗效。西医上形成机制较为复杂, 治疗上也有多种药物可以选择, 对终末期患者还可选用肺移植手术。中西医相结合治疗 IPF, 有着不错的发展空间, 相信未来会成为不少患者的福音。

参考文献

- [1] 周素贞, 王丁超, 李瀚. 李建生教授“气阴两补”治疗肺纤维化临床探要[J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 30(20): 39-40.
- [2] 栗林杰, 冯全生, 郑秀丽, 叶桦. 张之文辨治特发性肺纤维化经验探析[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(3): 1442-1445.
- [3] 任娟宁, 范文京, 李彤, 雷鹏, 战秀俊, 董鹏志, 姜苗苗. 麦门冬汤化学成分及治疗肺纤维化研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(6): 155-159.
- [4] 朱明亭, 吴月心, 左艳. 麦门冬汤加减治疗肺间质纤维化患者的疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(10): 1869-1873.
- [5] 姚玉兰. 补阳还五汤对比沙美特罗对慢性阻塞性肺疾病稳定期合并肺间质纤维化患者临床疗效研究[J]. 四川中医, 2017, 35(8): 77-79.
- [6] 杨晗, 王飞, 王全林, 等. 补阳还五汤对博来霉素所致肺纤维化大鼠肺指数及肺组织病理的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 142-146.
- [7] 张钰, 朱星, 陈云志, 刘怀全, 褚璨灿, 徐昌君, 童平珍, 田津. 补肺汤治疗呼吸系统疾病的临床及实验研究进展[J]. 中医学报, 2022, 37(3): 535-540.
- [8] 唐文君, 陈科伶, 肖玮, 周鹏程, 王武军. 补肺活血法治疗特发性肺间质纤维化的体会[J]. 实用中西医结合临床, 2019, 19(4): 118-119.
- [9] 栾智华, 张东坡, 刘必旺, 魏砚明, 王永辉. 黄芪甲苷对肺纤维化小鼠 VEGF/VEGFR2 信号通路的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1611-1613.
- [10] 徐昌君, 王鹏飞, 黄薇薇, 朱星, 陈云志, 欧江琴, 丁倩, 杨长福, 赵宗江, 张莉莉. 黄芪总黄酮对特发性肺纤维化 miRNA-21、let-7d 及 TGF- β /smad 信号干预作用[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1308-1311.
- [11] 田淑霞, 陈珺明, 韩永龙, 等. 丹参酮对肺纤维化大鼠的干预作用及其机制研究[J]. 世界中医药, 2014, 9(12): 1647-1650.
- [12] 李响, 何巍, 夏书月, 等. 丹参酮 IIA 激活 Nrf2/Nox4 通路减轻脂多糖诱导的小鼠肺炎和纤维化[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(1): 79-82.
- [13] 王清华, 姚旭, 魏新智, 闵冬雨, 任延毅, 庞立健. 黄芩苷抗博来霉素大鼠肺纤维化作用及机制研究[J]. 长春中医药大学学报, 2017, 33(2): 192-194.
- [14] 蔡健, 顾振纶, 蒋小岗, 等. 黄芩总黄酮对博来霉素致大鼠肺纤维化的干预作用及其机制研究[J]. 中草药, 2012, 43(1): 119-124.

- [15] 陈丽, 周艳, 李婧, 等. 艾灸“肺俞、膏肓俞”对 BLMA5 所致肺纤维化大鼠肺上皮细胞 E-cad 基因表达的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(8): 1762-1765+1790.
- [16] 杨善军, 封笑, 邢露茗, 等. 艾灸结合肺纤通路方对博莱霉素所致肺纤维化大鼠的治疗效果及对 NF- κ B/TGF- β 1/smad3 信号通路的调控作用[J]. 长春中医药大学学报, 2023, 39(3): 278-282.
- [17] 沈岩. 中药配合穴位注射治疗肺纤维化的临床效果[J]. 中国医药指南, 2022, 20(23): 123-125.
- [18] 刘楠楠, 姚岚, 秦琦. 保真汤治疗气阴两虚型肺间质纤维化的临床疗效[J]. 中国现代医生, 2021, 59(7): 139-142.
- [19] Moss, B.J., Ryter, S.W. and Rosas, I.O. (2022) Pathogenic Mechanisms Underlying Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Annual Review of Pathology*, **17**, 515-546. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-042320-030240>
- [20] Mei, Q., Liu, Z., Zuo, H., Yang, Z. and Qu, J. (2022) Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Update on Pathogenesis. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article ID: 797292. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.797292>
- [21] 李加贝, 昌建祥, 李忠贤. 血液净化联合乙酰半胱氨酸治疗急性百草枯中毒的效果及对肺纤维化的影响[J]. 中国医药, 2020, 15(1): 45-48.
- [22] Kishaba, T. (2019) Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Medicina (Kaunas)*, **55**, 70. <https://doi.org/10.3390/medicina55030070>
- [23] 杨雪梅, 王兴胜, 魏燕, 崔社怀. 小剂量糖皮质激素、N-乙酰半胱氨酸联合治疗特发性肺纤维化的前瞻性随机对照研究[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2012, 5(3): 233-238.
- [24] 陈焕苹. 大剂量 N-乙酰半胱氨酸联合糖皮质激素治疗慢性阻塞性肺疾病并肺间质纤维化的临床效果[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(10): 64-65.
- [25] 冯志红, 魏兵, 滕国杰, 于春妮, 聂秀红. 吡非尼酮治疗特发性肺间质纤维化疗效 Meta 分析[J]. 中国病案, 2015, 16(5): 83-87.
- [26] 魏桂莲, 崔彩云, 张泽丽, 马小军, 侯占鑫. 吡非尼酮联合常规内科治疗在慢性阻塞性肺疾病继发肺间质纤维化病变的临床效果分析[J]. 中外医学研究, 2022, 20(32): 1-6.
- [27] Fan, Y., Li, X., Fang, X., Liu, Y., Zhao, S., Yu, Z., Tang, Y. and Wu, P. (2021) Antifibrotic Role of Nintedanib in Tracheal Stenosis after a Tracheal Wound. *Laryngoscope*, **131**, E2496-E2505. <https://doi.org/10.1002/lary.29618>
- [28] 王帅, 王亚文, 邹永祚, 等. 尼达尼布治疗特发性肺纤维化 92 例对肺功能和肺纤维化指标的影响及不良反应分析[J]. 安徽医药, 2023(4): 826-829.
- [29] Gao, F., Hobson, A.R., Shang, Z.M., Pei, Y.X., Gao, Y., Wang, J.X. and Huang, W.N. (2015) The Prevalence of Gastro-Esophageal Reflux Disease and Esophageal Dysmotility in Chinese Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *BMC Gastroenterology*, **15**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1186/s12876-015-0253-y>
- [30] Allaix, M.E., Fisichella, P.M., Noth, I., Herbella, F.A., Borraez Segura, B. and Patti, M.G. (2014) Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Gastroesophageal Reflux. Implications for Treatment. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, **18**, 100-104. <https://doi.org/10.1007/s11605-013-2333-z>
- [31] 左鹤, 刘哲, 梅倩茹, 杨振华, 屈静. 干细胞及类器官在特发性肺纤维化修复和再生中的应用[J]. 药学学报, 2021, 56(11): 2900-2907+3204.
- [32] 韩闪, 刘晓秋. 嗜酸性粒细胞与特发性肺纤维化关系的研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(11): 1182-1184.
- [33] Shi, Y., Wang, Y., Li, Q., Liu, K., Hou, J., Shao, C. and Wang, Y. (2018) Immunoregulatory Mechanisms of Mesenchymal Stem and Stromal Cells in Inflammatory Diseases. *Nature Reviews Nephrology*, **14**, 493-507. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0023-5>
- [34] 段春艳, 高凌云. 间充质干细胞在特发性肺纤维化治疗中的应用[J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(3): 191-194.
- [35] Averyanov, A., Koroleva, I., Konoplyannikov, M., Revkova, V., Lesnyak, V., et al. (2020) First-in-Human High-Cumulative-Dose Stem Cell Therapy in Idiopathic Pulmonary Fibrosis with Rapid Lung Function Decline. *Stem Cells Translational Medicine*, **9**, 6-16. <https://doi.org/10.1002/sctm.19-0037>
- [36] Caminati, A., Cassandro, R., Torre, O. and Harari, S. (2017) Severe Idiopathic Pulmonary Fibrosis: What Can Be Done? *European Respiratory Review*, **26**, Article ID: 170047. <https://doi.org/10.1183/16000617.0047-2017>
- [37] 梁佳龙, 陈静瑜, 郑明峰, 叶书高, 刘峰, 王梓涛, 纪勇. 肺移植治疗特发性肺纤维化的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(8): 1573-1578.
- [38] 康萍. 特发性肺纤维化肺康复的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(10): 188-190.
- [39] 曾明耀. 特发性肺间质纤维化患者的护理[J]. 当代护士(学术版), 2010(9): 8-9.

- [40] 丁琳. 肺康复护理对间质性肺疾病稳定期患者的影响[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(6): 112-113.
- [41] Ozalevli, S., Karaali, H.K., Ilgin, D. and Ucan, E.S. (2010) Effect of Home-Based Pulmonary Rehabilitation in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, **5**, 31-37.
<https://doi.org/10.1186/2049-6958-5-1-31>