ARTÍCULO ORIGINAL

Síndrome metabólico, secreción de insulina y resistencia a la insulina en adolescentes con sobrepeso y obesidad

Rafael M. Violante-Ortiz¹, José A. Cisneros-Rodríguez¹, Manuel González-Ortiz^{2*}, Esperanza Martínez-Abundis², Karina G. Pérez-Rubio², Miriam Méndez-del Villar² y Alejandra M. Ramírez-Rodríguez²

¹Departamento de Medicina Interna, Hospital General Regional, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad Madero, Tamaulipas;

²Instituto de Terapéutica Experimental y Clínica, Departamento de Fisiología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal. México

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la frecuencia de síndrome metabólico (SM), secreción de insulina y resistencia a la insulina en adolescentes con sobrepeso y obesidad. **Métodos:** Se llevó a cabo un estudio transversal analítico en 264 adolescentes con sobrepeso u obesidad. El SM se diagnosticó acorde a los criterios de la Federación Internacional de Diabetes. La resistencia a la insulina y la secreción de insulina se evaluaron con los índices HOMA-IR y HOMA- β , respectivamente. Un comité de ética local aprobó el proyecto y los padres o tutores firmaron el consentimiento informado. Las diferencias intergrupo fueron evaluadas con la Prueba t de Student y fue considerado estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. **Resultados:** 14.4% de los pacientes presentaron sobrepeso y 85.6% obesidad.

ABSTRACT

Objective: To assess the frequency of metabolic syndrome (MetS), insulin secretion and insulin resistance in overweight and obese adolescents. **Methods:** A cross-sectional study was carried out in 264 adolescents with overweight or obesity. MetS was diagnosed according to the International Diabetes Federation criteria. HOMA-IR and HOMA- β indexes were calculated to evaluate insulin resistance and insulin secretion, respectively. A local Ethics Committee approved the study protocol and the parent or guardian signed written informed consent. Inter-group differences were evaluated with the Student t-test; $p < 0.05$ was considered significant. **Results:** 14.4% presented overweight and 85.6% obesity. The frequency of MetS was 13.2% in overweight adolescents and 33.2% in those who

Correspondencia:

*Manuel González-Ortiz
Montes Urales, 1409
Col. Independencia
C.P. 44340, Guadalajara, Jal., México
E-mail: uiec@prodigy.net.mx

Fecha de recepción: 30-08-2017
Fecha de aceptación: 07-01-2018
Doi: 10.24875/ALAD.18000303

La frecuencia de SM fue del 13.2% en los adolescentes con sobrepeso y del 33.2% en los pacientes con obesidad. Los adolescentes con obesidad presentaron mayor resistencia a la insulina (6.3 ± 6.2 vs. 3.4 ± 3.5 , $p < 0.001$) e incremento en la secreción de insulina (394 ± 284 vs. 242 ± 155 , $p < 0.05$) en comparación a los adolescentes con sobrepeso. **Conclusiones:** Los adolescentes con obesidad presentaron una frecuencia mayor de SM, con mayor resistencia a la insulina e incremento en la secreción de insulina en comparación con los adolescentes con sobrepeso.

Palabras clave: Síndrome metabólico. Secreción de insulina. Resistencia a la insulina. Sobrepeso. Obesidad.

were obese. Obese adolescents had higher values of insulin resistance (6.3 ± 6.2 vs. 3.4 ± 3.5 , $p < 0.001$) and insulin secretion (394 ± 284 vs. 242 ± 155 , $p < 0.05$) compared with overweight adolescents. **Conclusions:** Adolescents with obesity had a higher frequency of MetS, with greater insulin resistance and insulin secretion increased in comparison with those with overweight. (Rev ALAD. 2018;8:44-50)

Corresponding author: Manuel González-Ortiz,
uiec@prodigy.net.mx

Key words: Metabolic syndrome. Insulin secretion. Insulin resistance. Overweight. Obesity.

INTRODUCCIÓN

El sobrepeso y la obesidad en adolescentes se asocian con una amplia gama de complicaciones graves para la salud y un mayor riesgo de aparición prematura de enfermedades, que incluyen diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedades cardiovasculares¹, las cuales constituyen las dos principales causas de mortalidad en la población general, además de otras patologías como dislipidemia, hipertensión, enfermedades musculoesqueléticas y ciertos tipos de cáncer^{2,3}. De hecho, la acumulación de grasa que caracteriza el sobrepeso y la obesidad ha sido asociada con el síndrome metabólico (SM)⁴, un conjunto de elementos patológicos que comprende la obesidad abdominal, alteraciones en el metabolismo de la glucosa y los lípidos, así como una presión arterial elevada⁵.

El sobrepeso, la obesidad y el SM son trastornos metabólicos que causan alteraciones en la

secreción de insulina acompañadas de resistencia a la insulina⁶. Inicialmente, la resistencia a la insulina crea mecanismos compensatorios, mediante los cuales las células β -pancreáticas aumentan la producción y secreción de insulina, lo que mantiene una tolerancia a la glucosa normal, sin embargo, esta situación se agrava progresivamente hasta que la célula β no solo es incapaz de mantener la hipersecreción de insulina, sino que esta empieza a deteriorarse, con la consecuente disminución en la secreción de insulina⁷.

La prevalencia de SM reportada en adolescentes con sobrepeso y obesidad va del 20 al 55%^{6,8}, sin embargo, la frecuencia de SM en adolescentes con estas características en México no está del todo definida y posiblemente difiera entre las regiones del país. Además, aun cuando se ha descrito la fisiopatología de la resistencia a la insulina en el SM⁷, se desconoce si el progreso en el deterioro de estos procesos se relaciona con el grado de acumulación

de grasa en la adolescencia. Por lo tanto, es necesario evaluar la presencia de SM en adolescentes con sobrepeso y obesidad en nuestro país, así como su comportamiento sobre el metabolismo de la glucosa, que incluye la resistencia a la insulina y la secreción de insulina. Estos resultados pueden sentar las bases para la ejecución de acciones pertinentes que permitan revertir estas alteraciones a edades más tempranas y evitar la aparición de otras enfermedades y complicaciones durante la edad adulta.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la frecuencia del SM, la secreción de insulina y la resistencia a la insulina en adolescentes con sobrepeso y obesidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio transversal analítico en adolescentes de entre 10 y 19 años de edad⁹, con sobrepeso u obesidad, que acudieron a consulta para el manejo del peso corporal a un hospital de segundo nivel de atención. Se incluyeron todos los pacientes que presentaban sobrepeso u obesidad, que llegaron de forma consecutiva a consulta entre los meses de marzo y junio de 2016. Un comité de ética local aprobó el proyecto de estudio y el padre o tutor firmó la carta de consentimiento bajo información una vez que el paciente otorgó su asentimiento.

Al momento de la evaluación, ningún paciente había sido tratado con algún tipo de medicamento para corregir anormalidades metabólicas como alteraciones en la glucosa, tratamiento para hipertensión o dislipidemia.

Las evaluaciones clínicas, antropométricas y de laboratorio se llevaron a cabo a las 8:00 h tras 12 horas de ayuno. El peso y la estatura se midieron en

los pacientes con ropa ligera y sin zapatos. La estatura fue tomada con los sujetos de pie y con la cabeza en posición de plano de Frankfurt (cuando el orbital está en el mismo plano horizontal que el tracion). Las mediciones se redondearon al centímetro más próximo. El peso corporal se determinó a través de una báscula de bioimpedancia eléctrica y los resultados se reportaron en kilogramos con un decimal. El índice de masa corporal (IMC) se calculó con la fórmula del índice de Quetelet al dividir el peso corporal (kg) entre la estatura elevada al cuadrado (m^2). Para la clasificación del sobrepeso o la obesidad a través del IMC fueron utilizadas las tablas de edad y sexo de la Organización Mundial de la Salud¹⁰. Se diagnosticó sobrepeso cuando el IMC superaba el percentil 85, mientras que la obesidad fue diagnosticada cuando el percentil era mayor a 97. La circunferencia de cintura (CC) fue medida con una cinta certificada, flexible, de acero, marca Lufkin®, en el punto medio entre la última costilla y la cresta iliaca, y fue expresada en centímetros. Para la clasificación de la CC se utilizó el criterio para la edad, sexo y raza de Fernández, et al.¹¹. La presión arterial fue medida tres veces en el brazo izquierdo con un esfigmomanómetro digital (Omron Hem 907 XL®) con el sujeto sentado en una silla después de 5 minutos en reposo. La media de las tres mediciones dio el valor de la presión arterial sistólica (PAS) y de la presión arterial diastólica (PAD), expresados en mmHg.

Se tomaron muestras de sangre en ayuno para determinar las concentraciones de glucosa, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL), triglicéridos e insulina. La glucosa, el c-HDL y los triglicéridos se determinaron por métodos enzímocolorimétricos en un equipo automatizado (Erba XL-100®). Las mediciones tuvieron un coeficiente de variación intra e interensayo < 1 y 2%, respectivamente. Las concentraciones de insulina se midieron a través de un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima

(ELISA) tipo sándwich con un kit comercial (Accu-Diag™, DIAGMEX) y una especificidad del 100%. Los valores de insulina presentaron un coeficiente de variación intra e interensayo de 3.8 y 4.2%, respectivamente.

La resistencia a la insulina se calculó con el índice HOMA de resistencia a la insulina (HOMA-IR); $HOMA-IR = [\text{insulina plasmática en ayuno } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glucosa plasmática en ayuno (mmol/l)}] / 22.5$, y la secreción de insulina se calculó con el índice HOMA para la evaluación de la actividad de las células β pancreáticas (HOMA- β); $HOMA-\beta = [20 \times \text{insulina plasmática en ayuno } (\mu\text{U/ml})] / \text{glucosa plasmática en ayuno (mmol/l)} - 3.5^{12}$.

El SM se diagnosticó acorde a los criterios de la Federación Internacional de Diabetes (IDF), que incluyen CC más dos de los otros componentes¹³. Para los sujetos de 10 a 16 años de edad, fue realizado de la siguiente forma: CC mayor o igual al percentil 90 más glucosa ≥ 5.6 mmol/l, triglicéridos ≥ 1.7 mmol/l, c-HDL < 1.03 mmol/l, PAS ≥ 130 o PAD ≥ 85 mmHg. Para sujetos de una edad mayor de 16 años el diagnóstico se llevó a cabo cuando los hombres presentaban una CC ≥ 90 cm y las mujeres ≥ 80 cm, más glucosa de ayuno ≥ 5.6 mmol/l, triglicéridos ≥ 1.7 mmol/l, c-HDL en los varones < 1.03 mmol/l y < 1.29 mmol/l en las mujeres, PAS ≥ 130 o PAD ≥ 85 mmHg.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los sujetos fueron reclutados por muestreo a conveniencia. Los valores son expresados de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades. Las variables cuantitativas se presentan en medias y desviación estándar, mientras que las variables cualitativas se expresan en frecuencias y porcentajes. Las diferencias intergrupo fueron evaluadas con la Prueba t de

Student y fue considerado estadísticamente significativo al valor de $p \leq 0.05$. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 21.

RESULTADOS

Se incluyeron 264 adolescentes: 154 mujeres (58.3%) y 110 varones (41.7%). La distribución por edad fue de 75 adolescentes < 12 años (28.4%), 160 de 12-16 años (60.6%) y 29 > 16 años (11.0%). En la tabla 1 se describen las características de los adolescentes con SM, en donde las variables clínicas y de laboratorio estudiadas que incluyen resistencia a la insulina y secreción de insulina fueron significativamente diferentes entre ambos grupos. Los componentes del SM (CC [100.0 vs. 80.4%], PAS [47.5 vs. 8.2%], PAD [20 vs. 3.3%], glucosa [33.8 vs. 3.3%], triglicéridos [72.5 vs. 14.7%] y c-HDL [73.8 vs. 16.3%]) fueron más frecuentes en los adolescentes que tuvieron el diagnóstico, en comparación con aquellos que carecían del mismo. La obesidad correspondió al 85.6% de los adolescentes estudiados, en los que fue más frecuente la presencia de SM (33.2 vs. 13.2%; $p = 0.013$) en comparación al grupo de sobrepeso, al igual que los componentes de CC en las mujeres (93.3 vs. 42.9%; $p < 0.001$), en los varones (94.4 vs. 33.3%; $p < 0.001$), la PAS (23.0 vs. 2.6%; $p = 0.004$) y los triglicéridos (35.0 vs. 15.8%, $p = 0.019$). Además, los adolescentes con obesidad presentaron valores más elevados de HOMA-IR (6.3 ± 6.2 vs. 3.4 ± 3.5 , $p < 0.001$) y HOMA- β (394 ± 284 vs. 242 ± 155 , $p < 0.05$) en comparación con los adolescentes con sobrepeso, respectivamente.

DISCUSIÓN

El sobrepeso y la obesidad son enfermedades crónicas multifactoriales en las que se encuentran implicadas la resistencia a la insulina y otras

TABLA 1. Características de los adolescentes con y sin síndrome metabólico

	Sin SM (n = 184/69.7%)	Con SM (n = 80/30.3%)	p
Peso corporal, kg	74.6 ± 19.1	90.8 ± 22.7	<0.001
IMC, kg/m ²	29.7 ± 4.9	33.5 ± 5.6	<0.001
CC, cm ♀	93.2 ± 12.7	100.3 ± 11.0	0.001
CC, cm ♂	98.1 ± 13.9	112.8 ± 13.5	<0.001
PAS, mmHg	112.7 ± 12.9	124.6 ± 16.1	<0.001
PAD, mmHg	71.4 ± 6.5	76.5 ± 10.9	<0.001
Glucosa, mmol/l	4.8 ± 0.5	5.2 ± 0.7	<0.001
Insulina, pmol/l	128.4 ± 92.4	215.4 ± 190.8	<0.001
HOMA-IR	4.6 ± 3.2	8.7 ± 9.0	<0.001
HOMA-β	333 ± 215	461 ± 361	0.003
Triglicéridos, mmol/l	1.3 ± 0.6	2.3 ± 1.1	<0.001
c-HDL, mmol/l ♀	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.3	<0.001
c-HDL, mmol/l ♂	1.2 ± 0.2	0.9 ± 0.3	<0.001

CC: circunferencia de cintura; c-HDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; HOMA-β: índice HOMA para la evaluación de la actividad de las células β; HOMA-IR: índice HOMA de resistencia a la insulina; IMC: índice de masa corporal; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; SM: síndrome metabólico.

alteraciones metabólicas². La acumulación de grasa, que caracteriza el sobrepeso y la obesidad, se ha relacionado con la presencia de SM⁵. Además, la prevalencia de SM, así como las anormalidades en la secreción de insulina y la sensibilidad a la insulina en adolescentes con sobrepeso y obesidad, son factores importantes a tomar en cuenta para prevenir las enfermedades cardiovasculares y la DM2 en la edad adulta, a través de establecer estrategias para evitar su aparición.

El SM en adolescentes es un problema de salud creciente. En nuestro estudio se observó que el SM fue más frecuente en los adolescentes con obesidad en comparación con los que tenían sobrepeso. Un tercio de los adolescentes con obesidad tuvieron un diagnóstico de SM, mientras que 1 de cada 8 de los adolescentes con sobrepeso tuvieron SM. Esto coincide con lo que se ha informado en otros estudios donde la prevalencia de SM, diagnosticado también con el uso de los criterios de la IDF, varía

del 20.8 al 55.8% en adolescentes con obesidad^{14,15} y del 0.9 al 3.0% en adolescentes con peso saludable^{6,14-17}. Prevalencias mayores de SM, diagnosticado con los criterios del Adult Treatment Panel III, han sido reportadas en otros estudios de adolescentes con obesidad, uno de los cuales se realizó en población mexicana, en la región oeste y otro en adolescentes brasileños (62.0 y 45.5%, respectivamente)^{7,17}. Las prevalencias de SM varían según la región, sexo, edad y etnicidad de la población estudiada, así como según los criterios diagnósticos utilizados, pero los resultados de nuestro estudio confirman la importancia del peso como factor de riesgo para el desarrollo de SM¹⁶.

Los hallazgos del presente estudio revelan que una vez que el diagnóstico de obesidad se hace en adolescentes, este debe ser tratado de una manera oportuna y multidisciplinaria en un intento de mejorar todas las alteraciones metabólicas, no solo el peso corporal.

Las mediciones metabólicas realizadas, que incluyeron la sensibilidad a la insulina y la resistencia a la insulina, se observaron más frecuentemente alteradas en el grupo de adolescentes con SM. Es evidente que estos componentes del SM estuvieron presentes tanto en los adolescentes con sobrepeso como en los obesos, sin embargo, estuvieron significativamente más alterados en aquellos que padecían obesidad. Esto demuestra la importancia de proporcionar tratamiento cuando la alteración del peso es incluso mínima, para prevenir las anormalidades metabólicas que pueden ocurrir con un mayor exceso de peso.

Los criterios de SM más frecuentes en nuestro estudio, además de la CC, fueron la elevación de triglicéridos y de la PAS. Esto es similar a otros estudios que han reportado como criterio más común una alta concentración de triglicéridos^{17,18}. Otros estudios sugieren que un mayor IMC se asocia con la elevación de la PAS entre los adolescentes mexicanos en edad escolar¹⁹, como se mostró en nuestro estudio. La relevancia de nuestro hallazgo reside en saber que, si el paciente tiene sobrepeso u obesidad, las concentraciones de triglicéridos y la cifra de PAS nos darán el diagnóstico de SM en un alto porcentaje.

La resistencia a la insulina se ha propuesto como el factor central que conduce a las anormalidades observadas en el SM. En nuestro estudio, los adolescentes con SM y obesidad mostraron una mayor resistencia a la insulina y una mayor secreción de insulina, similar a otro estudio en el que las concentraciones de insulina presentaron una tendencia a ser más elevadas en el SM¹⁷. Esto demuestra el estado compensatorio hiperinsulinémico en los individuos, e indica la necesidad de promover estrategias que mejoren principalmente la sensibilidad a la insulina más que la secreción de insulina.

El almacenamiento de lípidos en tejidos sensibles a la insulina, como el hígado, el músculo y la grasa visceral, se asocia con un perfil metabólico típico caracterizado por un aumento de ácidos grasos libres y citocinas inflamatorias, así como con un nivel reducido de adiponectina²⁰. Además, la obesidad abdominal y la resistencia a la insulina pueden ser los principales predictores de riesgo de aumento del grosor de la íntima media carotídea en niños y adolescentes con obesidad, considerado el parámetro más confiable para la detección precoz de aterosclerosis subclínica en este tipo de pacientes²¹. En este sentido, sería interesante realizar otras mediciones clínicas del riesgo cardiovascular en futuros estudios.

Por lo tanto, el énfasis en todos los estudios y programas relacionados con el sobrepeso y la obesidad debe centrarse en la prevención, la detección temprana de los factores de riesgo metabólicos y las intervenciones que tendrán un impacto significativo en la salud futura del adulto.

Los sesgos de selección pueden ser una limitación de este estudio, que incluyen el de admisión, el de pertenencia y el de procedimiento de selección. Estudios con un tamaño de muestra calculado de acuerdo a las variables de desenlace y con poblaciones más homogéneas serán necesarios para confirmar nuestros resultados.

En conclusión, los adolescentes con obesidad presentaron una frecuencia mayor de SM, con mayor resistencia a la insulina e incremento en la secreción de insulina en comparación con los adolescentes con sobrepeso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Commission on Ending Childhood Obesity. Report of the Commission on Ending Childhood Obesity. Geneva: World Health Organization; 2016.

2. Karnik S, Kanekar A. Childhood Obesity: A Global Public Health Crisis. *Int J Prev Med.* 2012;3:1-7.
3. Lakshman R, Elks C, Ong K. Childhood obesity. *Circulation.* 2012;126:1770-9.
4. He F, Rodriguez-Colon S, Fernandez-Mendoza J, Vgontzas AN, Bixler EO, Berg A, et al. Abdominal Obesity and Metabolic Syndrome Burden in Adolescents-Penn State Children Cohort Study. *J Clin Densitom.* 2015;18:30-6.
5. Owens S, Galloway R. Childhood obesity and the metabolic syndrome. *Curr Atheroscler Rep.* 2014;16:1-8.
6. Gobato AO, Vasques AC, Zambon MP, Barros Filho Ade A, Hessel G. Metabolic syndrome and insulin resistance in obese adolescents. *Rev Paul Pediatr.* 2014;32:55-62.
7. Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev.* 2007;21:1443-55.
8. Peña-Espinoza BI, Granados-Silvestre MLÁ, Sánchez-Pozos K, Ortiz-López MG, Menjivar M. Metabolic syndrome in Mexican children: Low effectiveness of diagnostic definitions. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2017;64:369-76.
9. De Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007;85:660-7.
10. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization; 2006.
11. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr.* 2004;145:439-44.
12. Song Y, Manson JE, Tinker L, Howard BV, Kuller LH, Nathan L, et al. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and Risk of Diabetes in a Multiethnic Cohort of Women: The Women's Health Initiative Observational Study. *Diabetes Care.* 2007;30:1747-52.
13. Tavares-Giannini D, Caetano-Kuschnir MC, Szklo M. Metabolic syndrome in overweight and obese adolescents: a comparison of two different diagnostic criteria. *Ann Nutr Metab.* 2014;64:71-9.
14. Park J, Hilmers DC, Mendoza JA, Stuff JE, Liu Y, Nicklas TA. Prevalence of metabolic syndrome and obesity in adolescents aged 12 to 19 years: comparison between the United States and Korea. *J Korean Med Sci.* 2010;25:75-82.
15. Pelin AM, Mătășaru S. Metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi.* 2012;116:957-61.
16. Agudelo GM, Bedoya G, Estrada A, Patiño FA, Muñoz AM, Velásquez CM. Variations in the prevalence of metabolic syndrome in adolescents according to different criteria used for diagnosis: which definition should be chosen for this age group? *Metab Syndr Relat Disord.* 2014;12:202-9.
17. Evia-Viscarra ML, Rodea-Montero ER, Apolinar-Jiménez E, Quintana-Vargas S. Metabolic syndrome and its components among obese (BMI $\geq$ 95th) Mexican adolescents. *Endocrine Connections.* 2013;2:208-15.
18. Qorbani M, Kelishadi R, Farrokhi-Khajeh-Pasha Y, et al. Association of anthropometric measures with cardiovascular risk factors and metabolic syndrome in normal-weight children and adolescents: the CASPIAN III study. *Obes Facts.* 2013;6:483-92.
19. Sánchez-Zamorano LM, Salazar-Martínez E, Anaya-Ocampo R, Lazcano-Ponce E. Body mass index associated with elevated blood pressure in Mexican school-aged adolescents. *Prev Med.* 2009;48:543-8.
20. D'adamo E, Guardamagna O, Nobili V. Atherogenic dyslipidemia and cardiovascular risk factors in obese children. *Int J Endocrinol.* 2015; 912047.
21. Wasniewska M, Valenzise M, Manganaro A, Bombaci S, Iudicello R, Aversa T, et al. Increased intima media thickness at many arterial sites in obese adolescents with abdominal adiposity, insulin resistance, and high LDL-cholesterol. *J Endocrinol Invest.* 2011;34:647-9.