

Impacto de la diabetes mellitus en el paciente con trasplante cardiaco

José A. Moro, Luis Martínez-Dolz, Luis Almenar, Luis Martínez-Ortiz, Carlos Chamorro, Carlos García, Miguel A. Arnau, Joaquín Rueda, Esther Zorio y Antonio Salvador

Servicio de Cardiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

Introducción y objetivos. Actualmente, el impacto de la diabetes mellitus en los pacientes con trasplante cardiaco es controvertido y su efecto sobre la mortalidad y otras complicaciones, como las infecciones y los rechazos, no está completamente aclarado. El objetivo de este estudio es analizar estos efectos en nuestra población de pacientes trasplantados.

Métodos. Se ha estudiado a una población de 365 pacientes consecutivos con trasplante cardiaco desde noviembre de 1987 hasta mayo de 2003, dividiéndolos en 3 grupos en función de la presencia de diabetes pretrasplante (grupo 1), diabetes de novo (grupo 2) y no diabéticos (grupo 3). Se analizaron variables tanto basales como de complicaciones evolutivas, y los resultados se compararon mediante test t de Student, test χ^2 y método de Kaplan-Meier para la supervivencia.

Resultados. No apreciamos diferencias entre grupos en la supervivencia al año ($p = 0,24$) ni a 5 años ($p = 0,32$). Los pacientes de los grupos con diabetes mellitus pretrasplante y de novo tenían mayor edad (54,6 frente a 54,9 frente a 50,6 años; $p = 0,04$), mayor prevalencia de hipertensión arterial (el 48, el 36 y el 23%; $p = 0,001$) y mayor porcentaje de tratamiento con tacrolimus (el 10, el 12 y el 4%; $p = 0,04$) y esteroides (el 92, el 86 y el 70%; $p = 0,001$). Evolutivamente, estos 2 grupos presentan mayor incidencia de rechazo (el 64, el 70 y el 45%; $p = 0,001$).

Conclusiones. La diabetes previa al trasplante o de novo no tuvo impacto negativo sobre la supervivencia de nuestros pacientes trasplantados. Su presencia se asocia al tratamiento con esteroides y tacrolimus. En estos pacientes sería deseable realizar un ajuste individualizado de la inmunodepresión.

Palabras clave: Diabetes mellitus. Trasplante. Supervivencia. Complicaciones.

Impact of Diabetes Mellitus on Heart Transplant Recipients

Introduction and objectives. At present, there is some controversy about the impact of diabetes mellitus on heart transplant patients. The effect of the disease on mortality and on other complications, such as infection or rejection, is unclear. The objective of this study was to investigate these factors in our heart transplant patients.

Methods. We studied 365 consecutive patients who underwent heart transplantation between November 1987 and May 2003. We divided them in three groups according to whether they had pretransplantation diabetes (group 1), de novo diabetes (group 2), or no diabetes (group 3). Baseline variables and the development of complications were recorded, and findings were analyzed using Student's *t* test, chi squared test, and Kaplan-Meier survival analysis.

Results. There was no difference in the 1-year or 5-year survival rate between the groups ($P=0,24$ and $P=0,32$, respectively). Patients with pretransplantation and de novo diabetes were older (54.6 years vs 54.9 years vs 50.6 years, $P=0,04$), had a higher prevalence of hypertension (48% vs 36% vs 23%, $P=0,001$), and had more frequently been treated with tacrolimus (10% vs 12% vs 4%, $P=0,04$) or steroids (92% vs 86% vs 70%, $P=0,001$). The incidence of rejection during follow-up was greater in these two groups (64% vs 70% vs 45%, $P=0,001$).

Conclusions. Neither pretransplantation diabetes nor de novo diabetes had a negative impact on survival in our heart transplant patients. The disease's presence was associated with treatment with steroids and tacrolimus. In these patients it would be preferable to individualize immunosuppressive therapy.

Key words: Diabetes mellitus. Transplantation. Survival. Complications.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

Correspondencia: Dr. J.A. Moro López.
Enebro, 4, pta. 5. 46980 Paterna. Valencia. España.
Correo electrónico: moro@uv.es

Recibido el 27 de junio de 2005.
Aceptado para su publicación el 11 de mayo de 2006.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad sistémica con una gran prevalencia en el mundo, estimándose en alrededor de 176 millones de personas en el año 2000, con previsiones de incremento en los próximos años¹.

ABREVIATURAS

DM: diabetes mellitus.

TC: trasplante cardiaco.

La afección cardiovascular puede manifestarse de diversas maneras, ya sea como enfermedad arterial coronaria, insuficiencia cardiaca, ictus o enfermedad vascular periférica², y es la causa de muerte de un 65% de los pacientes con DM³. También es conocida la mayor susceptibilidad a las infecciones de los pacientes con DM.

Los pacientes que han recibido un trasplante presentan una elevada incidencia de DM de nueva aparición. La incidencia acumulativa de DM tras un trasplante está en torno a un 30% a los 5 años del procedimiento^{4,5}.

En el paciente trasplantado renal, aparte de las complicaciones derivadas tanto de la macroangiopatía como de la microangiopatía que se presentan en la población general, los ensayos clínicos sugieren que el paciente que desarrolla DM de novo presenta mayores complicaciones del injerto⁶ y una peor supervivencia⁷⁻⁹. El desarrollo de DM de novo también ha demostrado ser un factor de riesgo independiente para la mortalidad en el paciente con trasplante hepático¹⁰. La mayor incidencia de infecciones y, por tanto, el mayor riesgo de sepsis en los pacientes trasplantados con DM puede contribuir al aumento de mortalidad según 2 estudios realizados en receptores de riñón^{11,12}.

En el trasplante cardiaco (TC), el impacto de la DM está menos definido, ya que frente a estudios que muestran que los receptores con DM no presentan necesariamente un incremento del riesgo de infección o rechazo^{13,14}, hay otros que sugieren lo contrario¹⁵.

El objetivo del presente estudio es analizar el impacto de la DM, tanto previa como de novo, sobre la mortalidad y otras complicaciones que requieran ingreso hospitalario en nuestra población de pacientes con trasplante cardiaco.

MÉTODOS

Se ha estudiado a una población de 365 pacientes en los que se realizó un TC de forma consecutiva desde noviembre de 1987 hasta mayo de 2003; se excluyó a los pacientes que se encontraban en edad pediátrica y a aquellos en que se realizaba un trasplante cardiopulmonar o un retrasplante. El criterio diagnóstico utilizado para la DM ha sido la necesidad de tratamiento, bien con antidiabéticos orales, bien con insulina, durante al menos 4 semanas¹⁶.

La población se ha dividido en 3 grupos en función de la presencia previa de DM (n = 50, grupo 1), el desarrollo de DM postrasplante que requiriera tratamien-

to (n = 65, grupo 2) y el no desarrollo de DM (n = 250, grupo 3). Se han analizado variables tanto del receptor como del donante, del tratamiento inmunodepresor administrado y de la evolución del paciente, para intentar establecer las diferencias tanto basales como evolutivas entre los 3 grupos.

Se han considerado como complicaciones evolutivas las que requirieron ingreso hospitalario. Entre ellas, se definió fallo agudo del injerto cuando: *a*) en el quirófano se observó una disfunción ventricular severa con prolongación del tiempo quirúrgico antes del cierre esternal; *b*) fue necesario utilizar varios fármacos inotrópicos en dosis altas en las primeras 24 h, o *c*) se produjo deterioro hemodinámico con disfunción ventricular detectada por ecocardiografía durante el postoperatorio inmediato. La presencia de rechazo agudo se ha documentado bien mediante la biopsia endomiocárdica (grado histológico > 2), bien de forma clínica por la presencia de signos y síntomas de insuficiencia cardiaca franca con respuesta al tratamiento específico, o bien por los hallazgos de la ecocardiografía (disfunción ventricular izquierda y/o derecha no preexistente). La enfermedad vascular del injerto no se buscó de forma sistemática, sino por criterio clínico ante situaciones de insuficiencia cardiaca en ausencia de rechazo agudo, dolor torácico indicativo de angina, y arritmias, realizándose para su diagnóstico una coronariografía complementada con ecografía intravascular. La insuficiencia renal se definió como presencia de creatinina sérica > 1,5 mg/dl de forma sostenida en el seguimiento. El resto de las complicaciones (infecciosas, neurológicas, óseas, digestivas, necesidad de diálisis) se han registrado como tales cuando se ha establecido un diagnóstico por clínica o hallazgos de exploraciones complementarias.

Para el análisis estadístico univariable se utilizó el test t de Student para variables numéricas y el test de χ^2 para las variables categóricas, y se utilizaron el método de Kaplan-Meier y el estadístico de rangos logarítmicos para analizar la supervivencia. El paquete estadístico utilizado ha sido el SPSS 9.0®.

RESULTADOS

El estudio de las características basales de los pacientes muestra que los que previamente tienen DM, junto con los que la desarrollan con posterioridad al procedimiento, presentan mayor edad y mayor prevalencia de hipertensión arterial. El grupo de pacientes que desarrolla DM de novo tiene un menor porcentaje de pacientes en estadio funcional IV previo al trasplante que los grupos control y DM previa. Por otro lado, hemos podido observar que estos mismos pacientes fueron en menor proporción intervenidos de forma urgente. Con respecto al tratamiento inmunodepresor, cabe señalar que en los 2 grupos de pacientes diabéticos se aprecia una mayor proporción de pacien-

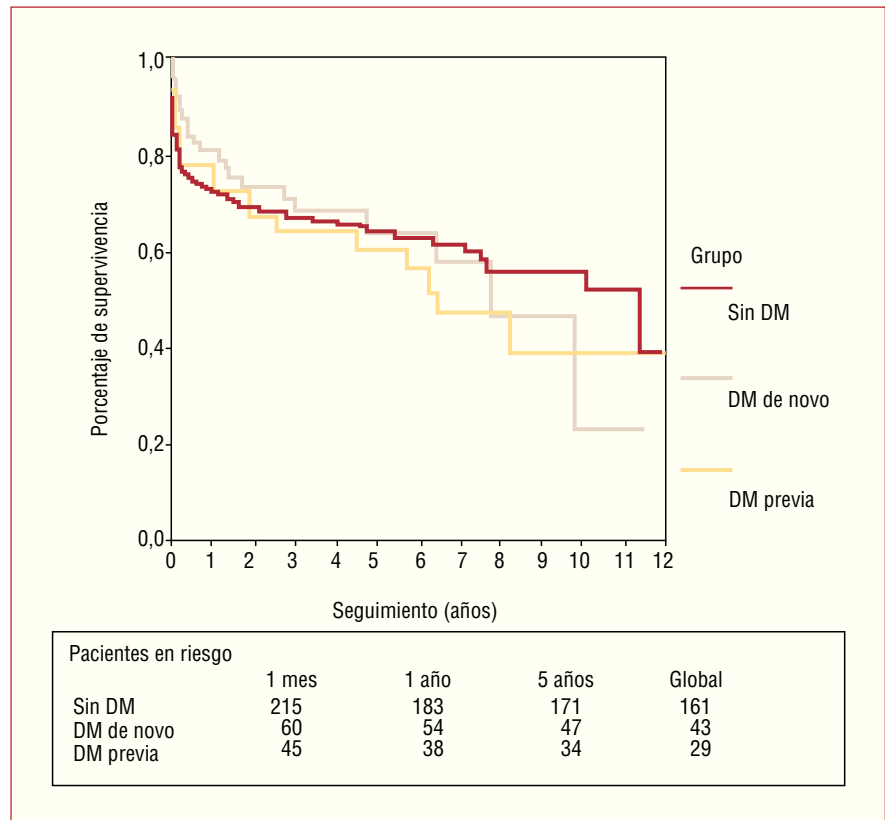


Fig. 1. Análisis de Kaplan-Meier para total de supervivencia ($p = 0,78$). DM: diabetes mellitus.

tes tratados con tacrolimus y esteroides respecto del grupo de pacientes control (tabla 1).

En el análisis de supervivencia global, la media temporal fue de 2.793 ± 153 días para el grupo de no diabéticos (mediana, 4.117 días; error estándar [EE] = 941), 2.467 ± 277 días para el grupo de diabéticos de novo (mediana, 2.815 días; EE = 448) y de 2.384 ± 296 (mediana, 2.330 días; EE = 490) para los diabéticos, sin que se apreciaran diferencias significativas entre ninguno de los grupos ($p = 0,78$) (fig. 1). Al estudiar la supervivencia al año de seguimiento y a los 5 años de evolución, la supervivencia de los pacientes diabéticos (tanto previos como de novo) no difiere de forma estadísticamente significativa ($p = 0,24$ y $p = 0,32$) con respecto a la de los pacientes control.

Al analizar las variables relacionadas con el seguimiento de los 3 grupos de pacientes se observa que tanto los pacientes diabéticos previos como los de novo presentan una mayor incidencia de episodios de rechazo. En las restantes variables (episodios infecciosos y otras complicaciones que requirieran ingreso hospitalario) no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (tabla 2).

DISCUSIÓN

La DM se ha considerado una contraindicación relativa para la inclusión de los pacientes en TC debido a

TABLA 1. Características basales de las poblaciones estudiadas

	DM previa (n = 50)	DM de novo (n = 65)	No DM (n = 250)	p
Edad (años)	55	55	51	0,04
IMC	27	27	26	0,06
Varón	86%	89%	88%	0,8
Fumador	34%	40%	37%	0,8
Dislipidemia	24%	35%	39%	0,1
Clase IV NYHA	62%	37%	55%	0,01
Insuficiencia renal	16%	7,7%	6,4%	0,07
HTA	48%	37%	24%	0,001
Etiología				
Isquémica	46,0%	46,2%	50,4%	
Dilatada	40,0%	41,5%	38,8%	0,9
Valvular	12,0%	10,8%	8,4%	
Otras	2,0%	1,5%	1,6%	
CCV previa	18%	20%	25%	0,3
Inclusión urgente	18,0%	9,2%	26,4%	0,009
Tratamiento inmunodepresor				
CsA	84,0%	86,2%	82,4%	0,7
AZA	46,0%	47,7%	43,6%	0,8
MMF	36,0%	46,2%	35,6%	0,28
TAC	10%	12,3%	4%	0,042
EST	92,0%	86,2%	70,0%	0,0001

AZA: azatioprina; CCV: cirugía cardiovascular; CsA: ciclosporina; DM: diabetes mellitus; EST: esteroides; HTA: hipertensión arterial; IMC: índice de masa corporal; MMF: micofenolato de mofetilo; TAC: tacrolimus.

TABLA 2. Factores evolutivos de las poblaciones estudiadas

	DM previa (n = 50)	DM de novo (n = 65)	No DM (n = 250)	P
Media temporal	2.384 ± 296 días	2.467 ± 277 días	2.793 ± 153 días	
FAI	18%	21%	26%	0,37
Rechazos				
Ninguno	36,0%	29,2%	55,6%	
1	34,0%	30,8%	22,0%	0,001
2 o más	30,0%	40,0%	22,4%	
Infección				
Ninguno	56,0%	55,4%	64,0%	
1	28,0%	23,1%	22,4%	0,4
2 o más	16,0%	21,5%	13,6%	
EVI	4,0%	3,1%	4,4%	0,8
Complicaciones neurológicas	16,0%	9,2%	8,8%	0,2
Complicaciones óseas	8,0%	10,8%	8,8%	0,8
Complicaciones digestivas	20,0%	17,2%	16,0%	0,7
Insuficiencia renal	42,0%	50,8%	56,0%	0,1
Necesidad de diálisis	4,0%	0%	2,4%	0,3
Mortalidad				
1 mes	10%	8%	14%	0,06
1 año	24%	17%	27%	0,24
5 años	32%	28%	32%	0,32
Global	42%	34%	36%	0,78

DM: diabetes mellitus; EVI: enfermedad vascular del injerto; FAI: fallo agudo del injerto.

la posibilidad de un mayor número de infecciones y a su empeoramiento a causa del tratamiento corticoide inmunodepresor¹⁷. Actualmente tenemos a nuestra disposición nuevos fármacos inmunodepresores cuya combinación nos permite disminuir las dosis de esteroides de estos pacientes y lograr un mejor control metabólico. El propósito de este estudio era comprobar si había diferencias, tanto en la supervivencia como en las complicaciones evolutivas, que requirieran hospitalización, en pacientes con DM previa, DM post-TC y en los que no desarrollan DM.

Los resultados obtenidos al analizar las características basales de las poblaciones muestran que los pacientes con DM pretrasplante y de novo (grupos 1 y 2) presentan mayor edad y mayor prevalencia de HTA, lo que concuerda con las características de presentación de esta enfermedad en la población general. Sin embargo, a diferencia de otras series, no hemos obtenido diferencias entre los 3 grupos con respecto al índice de masa corporal, dislipidemia, tabaquismo y presencia de insuficiencia renal (creatinina sérica > 1,5 mg/dl)^{4,11}. Como otros autores, tampoco hemos apreciado diferencias entre grupos según el diagnóstico de inclusión¹⁵ o la presencia de cirugía cardíaca previa. Sin embargo, sí que hemos encontrado un menor porcentaje de pacientes de los grupos 1 y 2 que han sido incluidos de forma urgente en el programa de trasplan-

te. Este hecho quizá obedezca a que, dado que el trasplante urgente presenta un mayor índice de complicaciones, se tiende a ser mucho más estricto a la hora de seleccionar a los pacientes con el fin de intentar disminuir los riesgos potenciales.

Con respecto al tratamiento inmunodepresor, hemos observado una mayor frecuencia de tratamiento con tacrolimus entre los pacientes con DM de novo con respecto a los no diabéticos, lo cual se confirma por otras series en las que el tacrolimus llega a ser hasta 5 veces más diabético⁴. No obstante, también se observa una mayor frecuencia de tratamiento con tacrolimus en los pacientes con DM previa, lo que se podría justificar por conversión a este fármaco debido a la mayor incidencia de rechazo bajo tratamiento con ciclosporina.

También se aprecia una mayor frecuencia de tratamiento con esteroides en los pacientes tanto del grupo 1 como del grupo 2, lo que puede deberse al mayor rechazo en estos grupos y haber contribuido a que los pacientes del grupo 2 se hayan convertido en diabéticos.

Los resultados obtenidos para la supervivencia no muestran diferencias significativas entre los grupos de pacientes en el análisis global ni en el realizado al año y a los 5 años de seguimiento, lo que se muestra de acuerdo con los resultados de otros autores como Marelli et al¹⁵ y se contraponen a otros, como Czerny et al¹⁸⁻²⁰.

En la evolución nuestros pacientes con DM no presentan mayor incidencia de fallo agudo del injerto. Al analizar la incidencia de rechazo se aprecia que los pacientes de los grupos 1 y 2 presentan más episodios que los pacientes no diabéticos, con una diferencia estadísticamente significativa. En cambio, al estudiar la frecuencia de infecciones no se han apreciado diferencias entre los grupos estudiados. Estos hallazgos, diferentes de los de otras series¹³⁻¹⁵, quizá se puedan deber a una inmunodepresión más ajustada en nuestros pacientes para intentar conseguir un mejor control metabólico.

La enfermedad vascular del injerto se presentó con una incidencia similar entre los 3 grupos, como en el estudio de Czerny et al¹⁸. Cabe decir que la enfermedad vascular del injerto no se ha estudiado de forma sistemática, sino por orientación clínica, por lo que la incidencia en nuestro caso probablemente subestime la real de esta enfermedad en el paciente trasplantado, como demuestran otros estudios en los que sí se ha realizado la búsqueda sistemática de ésta^{15,21}.

Con respecto a otras complicaciones que requirieran hospitalización, no hemos observado diferencias entre grupos al analizar los índices de complicaciones neurológicas, digestivas y óseas. Tampoco hemos hallado diferencias al analizar la incidencia de insuficiencia renal (definida como creatinina > 1,5), aunque sí con respecto a la necesidad de diálisis, que fue más frecuente en el grupo de pacientes con DM previa, lo que

se puede explicar por un mayor tiempo de exposición del riñón a los efectos deletéreos de la diabetes.

Cabe señalar que este trabajo presenta una serie de limitaciones. En primer lugar, decir que, aunque lo deseable hubiera sido utilizar los criterios diagnósticos de DM establecidos actualmente²², hemos tenido que seguir, como en otros estudios sobre este tema, el criterio de necesidad de tratamiento al menos 4 semanas. Asimismo, no hemos podido estratificar a los pacientes diabéticos en función de si eran insulino-dependientes o no, ya que por las características de estos pacientes no es infrecuente la alternancia en el tipo de tratamiento hipoglucemiante en función de la dosis del tratamiento inmunodepresor y la presencia de ciertos eventos, como el rechazo. Otra limitación de este estudio se encuentra en la valoración de la incidencia de la enfermedad vascular del injerto que, como ya hemos explicado, no se ha buscado de forma sistemática. Con respecto al diseño del estudio, tenemos que comentar el hecho de que no sabemos qué pacientes de los fallecidos precozmente en el grupo control hubieran desarrollado DM de novo, lo que podría dar una imagen de peor pronóstico en el grupo sin DM. Sin embargo, creemos que este efecto se ve minimizado al comparar los resultados frente al grupo de pacientes con DM previa.

CONCLUSIONES

En nuestra serie de pacientes con trasplante cardiaco, durante el seguimiento realizado, la diabetes mellitus previa al trasplante o de novo no tuvo impacto negativo sobre la supervivencia. Su presencia se asocia con un mayor tratamiento con esteroides (probablemente en relación con una mayor incidencia de rechazo en el seguimiento) y tacrolimus. En estos pacientes sería deseable realizar un ajuste individualizado de la inmunodepresión para disminuir la incidencia de rechazo sin incrementar la de otras complicaciones. Para ello sería útil la retirada o, al menos, la reducción precoz de los esteroides ya que, aunque puede incrementarse la tasa de rechazo, no aumenta la mortalidad, así como un mayor apoyo en la inmunodepresión con otros grupos farmacológicos menos diabetógenos.

Sería deseable la realización de más estudios y con mayor tiempo de seguimiento para poder definir mejor el impacto de esta enfermedad en el paciente con trasplante cardiaco.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization Diabetes Database. Disponible en: <http://www.who.int/ncd/dia/databases4.htm>.
2. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999;100:1134-46.

3. Geiss LS, Herman WH, Smith PJ. Mortality in non-insulin-dependent diabetes. En: Harris MI, Cowie CC, Stern MP, Boyko EJ, Reiber GE, Bennett PH, editors. *Diabetes in America*. 2nd ed. Bethesda: National Diabetes Data Group, National Institute of diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1995. p. 233-59.
4. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D, Matas AJ. Diabetes mellitus after transplantation in the United States. *Am J Transplant*. 2003;3:178-85.
5. Cosio FG, Pesavento TE, Osei K, Henry ML, Ferguson RM. Post-transplant diabetes mellitus: increasing incidence in renal allograft recipients transplanted in recent years. *Kidney Int*. 2001;59:732-7.
6. Dubernard JM, Frei U. Diabetes mellitus in transplantation. Introduction. *Trans Proc*. 2001;33 Suppl 5A:1-2.
7. Jindal RM, Hjelmæsaeth J. Impact and management of posttransplant diabetes mellitus. *Transplantation*. 2000;70:558-63.
8. Friedman EA, Shyh TP, Beyer MM, Manis T, Butt KM. Post-transplant diabetes in kidney transplant recipients. *Am J Nephrol*. 1985;5:196-202.
9. Boudreaux JP, McHugh L, Canafax DM, Ascher N, Sutherland DE, Payne W, et al. The impact of cyclosporine and combination immunosuppression on the incidence of posttransplant diabetes in renal allograft recipients. *Transplantation*. 1987;44:376-81.
10. Baid S, Cosimi AB, Farrel ML, Schoenfeld DA, Feng S, Chung RT, et al. Posttransplant diabetes mellitus in liver transplant recipients: risk factors, temporal relationship with hepatitis C virus allograft hepatitis, and impact on mortality. *Transplantation*. 2001;72:1066-72.
11. Sumrani NB, Delaney V, Ding Z, Davis R, Daskalakis P, Friedman EA, et al. Diabetes mellitus after renal transplantation in the cyclosporine era: an analysis of risk factors. *Transplantation*. 1991;51:343-7.
12. Benhamou PY, Penformis A. Natural history, prognosis and management of transplantation-induced diabetes mellitus. *Diabetes Metab*. 2002;28:166-75.
13. Badellino MM, Cavarocchi NC, Narins B, Jessup M, Alpern JB, McClurken JB, et al. Cardiac transplantation in diabetic patients. *Transplant Proc*. 1990;22:2384-8.
14. Ladowski JS, Kormos RL, Uretsky BF, Griffith BP, Armitage JM, Hardesty RL. Heart transplantation in diabetic recipients. *Transplantation*. 1990;49:303-5.
15. Marelli D, Hillel L, Bijal P, Kermani R, Marmureanu A, Patel J, et al. Heart transplantation in patients with diabetes mellitus in the current era. *J Heart Lung Transplant*. 2003;22:1091-7.
16. Martínez-Castelao A, Hernández MD, Pascual J, Morales JM, Marcén R, Errasti P, et al. Investigators of the HIGLU study. Detection and treatment of post kidney transplant hyperglycemia: a Spanish multicenter cross-sectional study. *Transplant Proc*. 2005;37:3813-6.
17. Hunt SA. Current status of cardiac transplantation. *JAMA*. 1998;280:1692-8.
18. Czerny M, Sahin V, Fasching P, Zuckermann A, Zimpfer D, Kilo J, et al. The impact of diabetes mellitus at the time of heart transplantation on long-term survival. *Diabetologia*. 2002;45:1498-508.
19. Radovancevic B, Konuralp C, Vrtovec B, Radovancevic R, Thomas CD, Zaqq M, et al. Factors predicting 10-year survival after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:156-9.
20. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Keck BM, Hertz MI. Registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report-2005. *J Heart Lung Transplant*. 2005;24:956-67.
21. Valantine H, Rickenbacker P, Kemna M, Hunt S, Chen YD, Reaven G, et al. Metabolic abnormalities characteristic of dysmetabolic syndrome predict the development of transplant coronary artery disease: a prospective study. *Circulation*. 2001;103:2144-52.
22. Moore R, Boucher A, Carter J, Kim SJ, Kiberd B, Loertscher R, et al. Post-transplant diabetes mellitus advisory board. Diabetes mellitus in transplantation: 2002 consensus guidelines. *Transplant Proc*. 2003;35:1265-70.