

HOMA-IR en obesos tratados con pentoxifilina

Joel Murillo-Llanes¹, Carlos López-Portillo², Paula Flores-Flores³

¹Departamento de Medicina Interna del Hospital General de Subzona # 4, Navolato, Sinaloa, México. ²Hospital Regional "Dr. Manuel Cárdenas de la Vega" Instituto de Seguridad Social al Servicio de los Trabajadores del Estado, Culiacán, Sinaloa, México. ³Instituto Mexicano del Seguro Social, Sinaloa, México

RESUMEN

Objetivo. Determinar el efecto sobre el índice de resistencia a la insulina en pacientes obesos tratados con pentoxifilina.

Material y Métodos. Se incluyeron 22 pacientes obesos adultos de ambos sexos, que procedían de la consulta de Medicina Interna del HGR # 1 IMSS, Culiacán, Sinaloa durante el periodo de febrero a mayo de 1998. Se midió el índice de resistencia a la insulina Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR). Los tratamientos fueron asignados de forma aleatoria y doble ciego al grupo 1 (pentoxifilina, n=11) administrándose 400 mg vía oral c/24 hrs a los pacientes con IMC superior a 25 kg/m² pero menor de 29.9 kg/m²; 400 mg vía oral c/12 hrs a pacientes con IMC entre 30 y 34.9 kg/m²; y 400 mg vía oral c/8 hrs a pacientes con IMC superior a 35 kg/m² durante dos meses y el grupo 2 (placebo, n=11); se midió glucosa e insulina en ayuno antes y después del tratamiento. Se utilizó el programa STATA.v6.

Resultados. De los 22 pacientes, 16 fueron del sexo femenino y 6 del sexo masculino, con un rango de edad de 28 a 54 años, con un promedio de 43.3 años. El HOMA-IR basal fue de 4.72 (IC 95% 3.3-6.1) y de 4.05 (IC 95% 2.8-5.2) para el grupo 1 y 2 respectivamente (p=0.39). Después del tratamiento el HOMA-IR fue de 7.6 (IC 95% 5.5-9.7) y 3.36 (IC 95% 2.0-4.6) para el grupo 1 y 2 respectivamente (p=0.001).

Conclusiones. La pentoxifilina incrementó el índice de resistencia a la insulina en pacientes obesos analizados en nuestro estudio.

Palabras clave: Obesidad, resistencia a la insulina, HOMA-IR, pentoxifilina

ABSTRACT

HOMA-IR in obese people treated with pentoxifylline

Objective. To determine changes on the index of resistance to insulin of obese patients after treatment with pentoxifylline.

Material and Methods. Adult obese patients of both genders from the Internal Medicine consultation of the HGR # 1, Culiacán, Sinaloa during the period February to May of 1998 were included in the study. The index of resistance to insulin was obtained by (HOMA-IR). Treatment groups were randomly assigned and double blind to group 1 (pentoxifylline, n=11) as follows: 400 mg oral intake every 24 hrs to patients with IMC higher than 25 kg/m² but lower than 29.9 kg/m²; 400 mg oral intake every 12 hrs to patients with IMC between 30 and 34.9 kg/m²; and 400 mg oral intake every 8 hrs to patients with IMC higher than 35 kg/m² during two months; and group 2 (placebo, n=11). Glucose and insuline measurements were taken before and after treatment. The STATA.v6 program was used.

Results. Of the 22 patients, 16 were female and 6 were male with a range of age 28 to 54 years old, an average age of 43.3 years. The basal HOMA-IR was 4.72 (IC 95% 3.3-6.1) and 4.05 (IC 95% 2.8-5.2) for group 1 and group 2, respectively

Solicitud de sobretiros: MC. Joel Murillo Llanes, Departamento de Investigación del Hospital General de Culiacán "Dr. Bernardo J. Gastelum" en Aldama y Nayarit s/n Colonia Rosales, Culiacán, Sinaloa. Teléfono: 667 7 16 98 15 Ext. 179. E-mail: invhgc@yahoo.com

Recibido: el 26 de septiembre de 2007. **Aceptado para publicación:** el 20 de febrero de 2008.

Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb081924.pdf>

($p=0.39$). After treatment the HOMA-IR was 7.6 (IC 95% 5.5-9.7) and 3.36 (IC 95% 2.0-4.6) for group 1 and group 2, respectively ($p=0.001$).

Conclusions. Pentoxifylline increased the index of resistance to insulin in obese patients.

Key words: Obesity, resistance to insulin, HOMA-IR, pentoxifylline

INTRODUCCIÓN

La pentoxifilina es un inhibidor de la fosfodiesterasa que se utiliza comúnmente como vasodilatador periférico en pacientes con claudicación intermitente, donde ha demostrado su eficacia en múltiples ensayos clínicos aleatorizados doble ciego (1). Además de ser un vasodilatador periférico, diferentes estudios tanto en animales como en humanos han demostrado que es un agente antiinflamatorio que bloquea la producción de citocinas por los macrófagos, como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), mediante el aumento del AMPc intracelular (2-6). Otros inhibidores de las fosfodiesterasas con propiedades antiinflamatorias, también estimulan la secreción de insulina inducida por la glucosa, tal como sucede con la aminofilina en diabéticos (7) o la lisofilina a nivel experimental (8).

El TNF- α se ha demostrado en grandes cantidades en el tejido adiposo de los obesos, cuyos niveles séricos se correlacionan fuertemente con el peso ($r: 0.64, p<0.01$) (9); además, se le conoce como factor clave en el desarrollo de resistencia a la insulina en obesos (10).

Matthews en 1985 implementó el Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance HOMA-IR (11), es decir, un modelo homeostático para medir resistencia a la insulina (RI) en estudios poblacionales; éste se correlaciona fuertemente con la técnica del "clamp" euglicémico hiperinsulinémico ($r = -0.820, p<0.0001$) (12,13), el cual se considera el estándar de referencia para medir la RI.

Tomando en cuenta que la pentoxifilina bloquea la síntesis del TNF- α por los macrófagos y que esta citocina se encuentra en grandes

cantidades en el tejido adiposo de los pacientes obesos (14), el presente estudio tiene por objetivo determinar los cambios que ocurren sobre el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR) en los pacientes obesos tratados con pentoxifilina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 22 pacientes adultos de ambos sexos con sobrepeso u obesidad, los cuales procedían de la consulta de Medicina Interna del HGR # 1 IMSS, Culiacán, Sinaloa, quienes fueron seleccionados durante el periodo comprendido de febrero a mayo de 1998. Se excluyeron aquellos pacientes con diagnóstico establecido de diabetes mellitus tipo 1 y 2, aquéllos que tuvieran un IMC menor de 25 kg/m², así como pacientes hipertensos tratados con beta bloqueadores o diuréticos, pacientes con enfermedades de la colágena o autoinmunes. Se investigaron los antecedentes de tabaquismo, alcoholismo, antecedentes hereditarios directos de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, dislipidemia o intolerancia a la glucosa. Se determinó la existencia de sobrepeso mediante el cálculo del índice de masa corporal (IMC), dividiendo el peso sobre la talla en metros al cuadrado, considerándose sobrepeso cuando el IMC estuviera entre 25 y 29.9 kg/m², obesidad grado 1 si el IMC está entre 30 y 34.9 kg/m², obesidad grado 2 si esta entre 35 y 39.9 kg/m² y obesidad grado 3 si es superior a 40 kg/m² (15).

Para investigar el antecedente familiar directo de diabetes mellitus tipo 2 se consideraron hermanos, padres o hijos que padezcan o que hayan padecido diabetes mellitus tipo 2.

Se consideró como paciente hipertenso al que recibía tratamiento para la hipertensión o bien si, después de un periodo de reposo mayor de 10 minutos sentado, la presión sistólica obtenida mediante un esfigmomanómetro fue superior a 140-59 milímetros de mercurio o bien si las cifras de presión diastólica fueron superiores a 90-99 milímetros de mercurio (16).

Se consideró dislipidemia cuando existieran ya sea niveles séricos de colesterol por arriba de

HOMA-IR y pentoxifilina en obesos

200 mg/dL, triglicéridos por encima de 200 mg/dL, lipoproteína de baja densidad (LDL) por encima de 160 mg/dL, o la lipoproteína de alta densidad (HDL) estuviera por debajo de 40 mg/dL (17).

La prueba de tolerancia a la glucosa se realizó mediante la administración oral de 75 gramos de dextrosa de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes; mediante punción de vena periférica se les tomaron muestras sanguíneas para la determinación de los niveles séricos de glucosa mediante la técnica de la glucosa oxidasa con la utilización de un equipo automatizado y cuyos rangos de glucosa normal fueron menores de 110 mg/dL; la primera medición de glucosa fue al tiempo 0 minutos y a los 120 minutos de la carga oral de glucosa; aquellos valores de glucosa en ayunas superiores a 110 mg/dL pero menores a 126 mg/dL se consideraron intolerancia a la glucosa en ayunas; se consideró como curva de tolerancia anormal de la glucosa si a las dos horas los valores fueron superiores a los 140 pero menores a 200 mg/dL (18).

Se calculó el índice de resistencia a la insulina mediante la fórmula del modelo de evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina (HOMA-IR) dividiendo el producto de la multiplicación de los niveles de glucosa en milimoles por litro por la insulina en miliunidades por mililitro dividido entre una constante de 22.5 cuyo punto de corte es en individuos normales menor de 3 (19). La determinación de insulina fue a través de un lector de radioinmunoanálisis GAMATEC II, el cual fue debidamente estandarizado, cuyas cifras normales de insulina fueron de 3-15 mU/ml.

Todos los pacientes elegibles firmaron una carta de consentimiento informado; se asignaron los tratamientos aleatoriamente y a doble ciego formándose dos grupos: al grupo 1 (pentoxifilina, n=11) se le administraron 400 mg vía oral c/24 hrs a los pacientes con IMC superior a 25 kg/m² pero inferior a 29.9 kg/m²; 400 mg cada 12 hrs vía oral, a los pacientes con IMC entre 30 y 34.9 kg/m²; 400 mg vía oral cada 8 hrs a pacientes con IMC superior a 35 kg/m². El grupo 2 (placebo,

n=11) recibió el tratamiento comparativo en las mismas condiciones que el grupo 1. El tratamiento se les administró durante un periodo de 2 meses realizando mediciones de las variables de interés al principio y al final del tratamiento. Variables respuesta o de impacto terapéutico fueron glucosa e insulina basal y el índice de resistencia a la insulina obtenido mediante el HOMA-IR.

Para el análisis estadístico de las variables categóricas se utilizó la prueba Chi cuadrada; para la diferencia de medias de las variables cuantitativas se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes de dos colas con un error de 0.05. En ambos grupos se utilizó el programa estadístico STATA.v6 (20).

RESULTADOS

De los 22 pacientes, 16 correspondieron al sexo femenino y 6 al sexo masculino, con un rango de edad de 28 a 54 años y un promedio de 43.3 años; los grupos de estudio fueron similares en cuanto a los antecedentes sobre tabaquismo, alcoholismo, antecedente familiar directo de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, dislipidemia, intolerancia a la glucosa y grado de obesidad (**Cuadro 1**).

Cuadro 1
Características de los pacientes tratados con pentoxifilina vs placebo en obesos

Variables		*GRUPO	**GRUPO	p
		1 n= 11	2 n=11	
		No.	No.	
Sexo	Femenino	9	7	ns
	Masculino	2	4	
Edad		41.72	43.1	ns
AHFD2		10	8	ns
	< 30	1	3	ns
IMC (kg/m ²)	30.1-34.99	5	2	ns
	> 35	5	6	ns
Tabaquismo		2	3	ns
Alcoholismo		3	5	ns
Intolerancia a la glucosa		9	6	ns
Dislipidemia		11	9	ns
Hipertensión arterial		5	6	ns

Nota: *grupo de pacientes tratados con pentoxifilina. **Grupo de pacientes tratados con placebo. AHFD2: antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2

Para el grupo 1, 9 pacientes fueron mujeres y 2 fueron hombres; del grupo 2, 7 fueron mujeres y 4 hombres; la edad promedio para las mujeres fue de 41.72 y de 41 años en los hombres del primer grupo, y de 45 para mujeres y 43.5 años para los hombres del grupo 2.

Antes del tratamiento el promedio de glucosa fue de 115.36 mg/dL (IC 95% 95.4-135.3) para el grupo 1 y de 125 mg/dL (IC 95% 96.1-153.8) para el grupo 2 ($p=0.54$); los niveles de insulina para el grupo 1 y el grupo 2 fueron de 16.6 mU/ml (IC 95% 12.3-20.9) y de 15.5 mU/ml (IC 95% 9.1-21.8) respectivamente ($p=0.75$), y El HOMA-IR fue de 4.72 (IC 95% 3.3-6.1) y de 4.05 (IC 95% 2.8-5.2) para el grupo 1 y 2 respectivamente ($p=0.39$) (**Cuadro 2**).

Cuadro 2
Valores de glucosa, insulina y HOMA-IR
pretratamiento

Variables	Grupo 1 (n=11)		Grupo 2 (n=11)		p
	Media	DE	Media	DE	
Glucosa (mg/dl)	115.3	29.7	125	42.9	0.54
Insulina (mU/ml)	16.6	6.36	15.5	9.46	0.75
HOMA-IR	4.7	1.9	4.02	1.69	0.39

Nota: El grupo 1 recibió tratamiento con pentoxifilina y el grupo 2 recibió placebo y sus datos fueron analizados mediante la prueba T de Student para muestras independientes de 2 colas. DE: desviación estándar; p= significancia estadística.

Al término del tratamiento, el nivel de glucosa del grupo 1 y del grupo 2 fue de 111.5 mg/dL (IC 95% 95.6-127.4) y 120.9 mg/dL (IC 95% 86.3-155.4) respectivamente ($p=0.58$); mientras que los niveles de insulina fueron de 25.6 mU/ml (IC 95% 19.4-31.8) para el grupo 1 contra 13.4 mU/ml (IC 95% 9.1-17.6) del grupo 2 ($p= 0.0017$) y el HOMA-IR fue de 7.6 (IC 95% 5.5-9.7) y 3.36 (IC 95% 2.0-4.6) para el grupo 1 y 2 respectivamente ($p=0.001$) (**Cuadro 3**).

Cuadro 3
Valores de glucosa, insulina y HOMA-IR
postratamiento

Variables	Grupo 1 (n=11)		Grupo 2 (n=11)		p
	Media	DE	Media	DE	
Glucosa (mg/dl)	111.5	23.6	120.9	51.37	0.58
Insulina (mU/ml)	25.6	9.2	13.4	6.3	0.0017
HOMA-IR	7.6	2.9	3.36	1.81	0.0010

Nota: El grupo 1 recibió pentoxifilina y el grupo 2 recibió placebo y los datos fueron analizados mediante la prueba T de Student para muestras independientes de 2 colas.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio la pentoxifilina no modificó de manera significativa los niveles sanguíneos de glucosa en ayuno; sin embargo, existen estudios que demuestran que los inhibidores de la fosfodiesterasa, como la pentoxifilina, la aminofilina y la cafeína, en sujetos sanos disminuyen la producción hepática de glucosa, aunque este último redujo el HOMA-IR en un 35% (21,22), pero en diabéticos incrementa tanto los niveles de insulina como la glucosa, además de reducir la sensibilidad a la insulina comparado con el placebo (23).

El incremento del HOMA-IR se debió a la hiperinsulinemia observada en los pacientes, ya que los niveles de glucosa no variaron de manera significativa; sin embargo, en pacientes con esteatohepatitis la pentoxifilina demostró lo contrario (24); demostramos que en obesos la pentoxifilina aumenta los niveles basales de insulina probablemente por inhibición del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el cual se encuentra aumentado tanto en tejido adiposo como en células beta de pacientes obesos reflejándose con un incremento en la producción de insulina, lo cual también se ha demostrado *in vitro* (25,26);

HOMA-IR y pentoxifilina en obesos

otro mecanismo podría ser el incremento en la producción de ATP (27) por las células beta, lo cual estimularía la secreción de insulina. A pesar de la escasez de estudios similares, podemos argumentar que los análogos a la pentoxifilina, como la aminofilina, en los pacientes diabéticos tipo 2 aumentan la secreción de insulina y que la lisofilina, el cual es un inhibidor de la fosfodiesterasa con propiedades antiinflamatorias, también aumenta la secreción de insulina estimulada por la glucosa en diabéticos tipo 1, además de estimular el metabolismo mitocondrial mediante la inhibición de la síntesis de citocinas por los macrófagos (28).

Dentro de las debilidades del estudio encontramos que las dosis de pentoxifilina fueron calculadas y administradas de forma arbitraria, ya que no encontramos forma de poder establecer una dosis de acuerdo al peso de los pacientes; también creemos que hubiera sido interesante conocer el comportamiento del HOMA-IR en los pacientes con sobrepeso, obesos grado 1, 2 y 3 y poder observar la magnitud de sus cambios por grupos, lo cual no realizamos debido al tamaño de la muestra tan pequeño por grupo.

Por los resultados encontrados en el presente estudio podemos asumir que el uso prolongado de la pentoxifilina en pacientes con problemas de tipo circulatorio, lejos de mejorarlos, puede causar un mayor deterioro ya que los niveles de insulina elevados en forma prolongada podrían favorecer la proliferación del endotelio, y esto a su vez, mayor deterioro en la microcirculación, lo cual se ha demostrado en pacientes con enfermedad coronaria (29).

CONCLUSIONES

La pentoxifilina incrementó el índice de resistencia a la insulina en obesos. Con estos resultados debemos seleccionar los pacientes para poder utilizar la pentoxifilina, ya que podría inducirse o bien agravar el síndrome metabólico que ocurre en obesos, en quienes ya existe una tendencia a desarrollar resistencia a la insulina.

REFERENCIAS

1. **Rosner M, Muller R.** On the assessment of the efficacy of pentoxifylline (Trental). *J Med* 1987; 18:1-15.
2. **Stosić-Grujčić S, Maksimović D, Badovinac V, Samardzić T, Trajković V, Lukić M, et al.** Antidiabetogenic effect of pentoxifylline is associated with systemic and target tissue modulation of cytokines and nitric oxide production. *J Autoimmun* 2001; 16:47-58.
3. **Cigolinia M, Agostino G, Borgato L.** Plasminogen activator inhibitor-1 in human fat: Effect of tumor necrosis factor-and pentoxifylline. *Atherosclerosis* 1997; 134:188-189.
4. **Stosić-Grujčić SD, Maksimović DD, Stojković MB, Lukić ML.** Pentoxifylline prevents autoimmune mediated inflammation in low dose streptozotocin induced diabetes. *Dev Immunol* 2001; 8:213-21
5. **Liang L, Beshay E.** The phosphodiesterase inhibitors pentoxifylline and rolipram prevents diabetes in NOD mice. *Diabetes* 1998; 47:570-575
6. **Visser J, Groen H, Klatter F, Rozing J.** Timing of pentoxifylline treatment determines its protective effect on diabetes development in the Bio Breeding rat. *Eur J Pharmacol* 2002; 445:133-40
7. **Arias AM, Bisschop PH, Ackermans MT, Nijpels G, Endert E, Romijn JA, et al.** Aminophylline stimulates insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2001; 50:1030-35.
8. **Chen M, Yang Z, Wu R and Nadler JL.** Lisofylline, a novel antiinflammatory agent, protects pancreatic beta-cells from proinflammatory cytokine damage by promoting mitochondrial metabolism. *Endocrinology* 2002; 143:2341-8.
9. **Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, and Spiegelman BM.** Increased Adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95:2409-15.
10. **Jones C, Abbasi F, Carantoni M, Polonsky KS, and Reaven GM.** Roles of insulin resistance and obesity in regulation of plasma insulin concentrations. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E501-E508.
11. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF and Turner RC.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man (comment): *Diabetologia* 1985; 8:12-9.
12. **DeFronzo RA, Tobin JD, and Andres R.** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1979; 237: E214-23.
13. **Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC.** Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin

- sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23:57-63.
14. **Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G.** Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:E745-51.
 15. **Kueszmarskib RJ, Flegal KM.** Criteria for definition of overweight in transition:background and recommendations for the United States. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:1074-1081.
 16. **The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure.** *Hypertension* 2003; 42:1206.
 17. **East HH, Hicks G S, Low AK, Bouldin MJ, Russell Lori D, Friedrich CA, Brown C.** An Internist's Update on Cholesterol Management (Symposium). *Am J Med Sci* 2002; 324:189-195.
 18. **Kuzuya T, Nakagawa S, Satoh J, Kanazawa Y.** Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2002; 55:65-85.
 19. **Rodríguez-Moran M, Guerrero-Romero F.** Insulin resistance is independently related to age in Mexican women. *J Endocrinol Invest* 2003; 26:42-8.
 20. **Lawrence C. Hamilton.** *Statistics with Stata 6*
 21. **Arias AMP, Bisschop PH, Ackermans MT, Nijpels G.** Aminophylline stimulates insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2001; 50:1030-1035.
 22. **MacKenzie T, Comi R, Sluss P, Keisari R, Manwar S, Kim J, et al** Metabolic and hormonal effects of caffeine: randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. *Metabolism* 2007; 56:1694-8
 23. **Robinson LE, Savani S, Battram DS, McLaren DH, Sathasivam P, Graham TE.** Caffeine ingestion before an oral glucose tolerance test impairs blood glucose management in men with type 2 diabetes. *J Nutr* 2004; 134:2528-33
 24. **Satapathy SK, Garg S, Chauhan R, Sakhuja P, Malhotra V, Sharma BC, et al.** Beneficial effects of tumor necrosis factor-alpha inhibition by pentoxifylline on clinical, biochemical, and metabolic parameters of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:1946-52.
 25. **Yang Z, Chen M, Carter JD, Ellett JD, Smith KM, Nadler JL.** Inflammation blockade improves pancreatic islet function. *Transplant Proc* 2004; 36:2864-5
 26. **Yang Z, Chen M, Ellett JD, Carter JD, Brayman KL, Nadler JL.** Inflammatory blockade improves human pancreatic islet function and viability. *Am J Transplant* 2005; 5:475-83
 27. **Carroll JS, Ku CJ, Karunarathne W, Spence DM.** Red blood cell stimulation of platelet nitric oxide production indicated by quantitative monitoring of the communication between cells in the bloodstream. *Anal Chem* 2007; 79:5
 28. **Godsland IF, Stevenson JC.** Insulin resistance: Syndrome o tendency? *Lancet* 1995; 346:100-3.
 29. **Ariza CR, Fratti A, Gomez G, Almazan A.** Hyperinsulinemia in patients with Coronary Heart Disease in Absence of Overt Risk Factors. *Arch Med Res* 1997; 28:115-119.